

van Lackum, André

Untersuchungen zur biologischen Reinigung
cyanwasserstoffhaltiger Abluftströme (Cyanidelimination)

DIPLOMARBEIT

HOCHSCHULE MITTWEIDA (FH)

UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Fakultät Mathematik / Naturwissenschaften / Informatik

Chemnitz, 2009

van Lackum, André

Untersuchungen zur biologischen Reinigung
cyanwasserstoffhaltiger Abluftströme (Cyanidelimination)

eingereicht als

DIPLOMARBEIT

an der

HOCHSCHULE MITTWEIDA (FH)

UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Fakultät Mathematik / Naturwissenschaften / Informatik

Chemnitz, 2009

Erstprüfer: Prof. Dr. rer. nat. Petra Radehaus
Zweitprüfer: Dipl. Biol. Jens Mählmann

Die vorgelegte Arbeit wurde verteidigt am: 10.12.2009

van Lackum, André

Untersuchungen zur biologischen Reinigung cyanwasserstoffhaltiger Abluftströme (Cyanidelimination)“. – 2009. - S. 96; Chemnitz, Hochschule Mittweida (FH) – University of Applied Sciences, Fakultät Mathematik/ Naturwissenschaften / Informatik, Diplomarbeit 2009

Kurzreferat

Abgase aus Flammkaschierprozessen können hohe Konzentrationen an Cyanidverbindungen enthalten, von denen dem Cyanwasserstoff bezüglich der Ökotoxizität die größte Bedeutung zukommt. Eine kostengünstige und effiziente Alternative zu herkömmlichen chemisch physikalischen Verfahren bietet die biologische Abluftreinigung, deren Funktionstüchtigkeit bereits unter Einsatz der cyanidverwertenden Mischkultur KS-7D nachgewiesen werden konnte. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden mit einem Laborrieselbettreaktor Versuche zur biologischen Cyanwasserstoffelimination mit täglicher Substratzuführung durchgeführt und dabei das Systemverhalten bezüglich der Cyanidelimination bei Einsatz eines textilen Aufwuchsträgers aus Polypropylen und eines granulären Trägermaterials aus Polypropylen- und Viskosefasern getestet. Weiterhin wurden über einen 15-wöchigen Zeitraum die Effizienz und die Stabilität des Abbauverhaltens zweier Großanlagen zur Cyanidelimination untersucht. Um einen Eindruck von der Mikroflora der Anlagen zu erhalten, wurden anhand einfacher mikrobiologischer Methoden zur Differenzierung Mikroorganismen untersucht, welche aus den Umlaufwässern der Anlagen isoliert wurden. Mit dem textilen Aufwuchsträger konnten 38,1 mg Cyanid zu 77,9 % eliminiert werden, mit dem Granulat wurden 31,7 mg Cyanid zu 79,0 % abgebaut. Bei beiden Großanlagen konnten während der 15-wöchigen Versuchsdauer keine ausreichend effizienten Abscheidegrade festgestellt werden, wobei bei beiden Anlagen zum Teil höhere Cyanidkonzentrationen in der Reinluft als in der Rohluft gemessen wurden. In den Umlaufwässern beider Anlagen konnten jeweils 4 voneinander unterscheidbare cyanidtolerante bzw. cyanidverwertende Mikroorganismenspezies nachgewiesen werden.

Danksagung

Die vorliegende Diplomarbeit wurde am Sächsischen Textilforschungsinstitut e. V. in der Zeit von Juli 2009 bis September 2009 im Rahmen des Projekts „Biologische Abluftreinigung bei der Flammkaschierung – Untersuchungen zum Einfluss verfahrenstechnischer Parameter auf die Prozessstabilität“ (Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen (AiF) – „Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand (ZIM)“, FZK: KF2034001SB8) angefertigt. Die Betreuung erfolgte durch Frau Prof. Radehaus von der Hochschule Mittweida sowie durch Herrn Dipl. Biologen Jens Mählmann vom Sächsischen Textilforschungsinstitut e.V..

Bei Frau Prof. Radehaus möchte ich mich herzlich für die ausgezeichnete Betreuung in Form von ausgiebigen Diskussionen bei Problemstellungen und die gute fachliche Beratung sowie die Überlassung von Laborkapazitäten der Hochschule Mittweida bedanken.

Herrn Dipl. Biologen Jens Mählmann danke ich besonders für die hervorragende Betreuung, die jederzeitige Diskussions- und Hilfsbereitschaft bei Frage- und Problemstellungen sowie die vielen Denkanstöße und Anregungen.

Bei Herrn Dipl. Ing. Marco Sallat möchte ich mich besonders für die Hilfsbereitschaft bei Laborarbeiten und die Diskussions- und Hilfsbereitschaft bei Problemstellungen bedanken.

Mein Dank geht außerdem an Frau Dipl. Ing. (FH) Sandra Feik und Herrn M. Sc. René Kretschmer für die Unterstützung der Laborarbeiten an der Hochschule Mittweida.

Ebenfalls großer Dank gilt den Mitarbeitern des STFI für die sehr freundliche Aufnahme, sowie die Unterstützung und die Hilfsbereitschaft in jeglicher Hinsicht. Großer Dank geht an die Firmen Vowalon und CH. Müller für die Ermöglichung der Probenahmen an den Großanlagen. Der Firma UGN danke ich für die Überlassung von Daten der Großanlagen sowie des granulären Aufwuchsträgers.

Ich danke meinen Eltern, die mich während meines Studiums moralisch unterstützten.

Besonderer Dank gilt meiner Lebensgefährtin Isabel Meichsner, die mich während der gesamten Studienzeit und besonders während der Diplomphase im privaten Bereich bestmöglich unterstützte und entlastete.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
1.1 Cyanide.....	3
1.1.1 Formen und Einteilung von Cyaniden	3
1.1.2 Cyanwasserstoff (HCN)	4
1.1.3 Toxische Wirkung von Cyaniden.....	4
1.1.4 Vorkommen und Verwendung von Cyaniden	5
1.2 Flammkaschierung	7
1.2.1 Derzeitige Situation.....	8
1.2.2 Stand der Technik bei der Cyanidelimination	8
1.3 Biologische Abluftreinigung.....	11
1.3.1 Biorieselbettreaktor	13
1.3.1.1 Stoffübergang von der Abgasphase in die wässrige Phase.....	14
1.3.1.2 Schadstofftransport aus der Gasphase in die Mikroorganismenzelle	15
1.3.2 Schadstoffabbau mit immobilisierten Mikroorganismen.....	16
1.2.3 Bildung und Aufbau von Biofilmen	17
1.4 Cyanidabbau- und Verwertung durch Mikroorganismen.....	19
1.4.1 Bedingungen für den mikrobiellen Cyanidabbau	19
1.4.2 Mikrobielle Abbauwege	21
1.4.3 Einsatz und Ausbildung heterogener Kulturen bei der Cyanidelimination.....	24
2 Laborrieselreaktor	26
2.1 Material und Methoden	28
2.1.1 Aufwuchsträgermaterialien.....	28
2.1.2 KS -7D	29
2.1.2.1 Sterilisation der Gefäße und Medien	31
2.1.2.2 Kultivierung der Mikroorganismen	31
2.1.3 Versuchsaufbau.....	31
2.1.3.1 Sterilversuche.....	33
2.1.3.2 Kontinuierliche Betriebsweise der Versuchsanlage	33
2.1.3.3 Nasschemische Bestimmung des Gesamtcyanidgehalts.....	33

2.1.3.4	Bestimmung des pH-Wertes der Nährlösung.....	34
2.1.3.5	Bestimmung der optischen Dichte und der Zelldichte.....	34
2.2	Ergebnisse Laborrieselreaktor	35
2.2.1	Versuchsvariante Schlingseil	35
2.2.2	Versuchsvariante Granulat.....	36
2.2.3	Vergleich der Massenbilanzen beider Versuchsvarianten	37
2.3	Diskussion.....	40
3	Großanlagen	43
3.1	Material und Methoden	44
3.1.1	Beschreibung der Anlagen.....	44
3.1.2	Bestimmung der CN ⁻ -Konzentration in Roh- und Reinluft.....	46
3.1.3	Quantitative Bestimmung des Gesamtcyanidgehaltes im Umlaufwasser	47
3.1.4	Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten cyanidverwertender Organismen im Umlaufwasser	48
3.1.5	Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit der Inhaltsstoffe des Umlaufwassers	49
3.1.6	Temperatur und pH-Wert	49
3.1.7	Untersuchung der mikrobiellen Besiedlung der Aufwuchsträgeroberfläche	50
3.2	Ergebnisse	51
3.2.1	CN ⁻ -Konzentration in Roh- und Reinluft	51
3.2.2	Konzentration Gesamtcyanid, pH-Wert und Temperatur.....	53
3.2.3	KBE-cyanidverwertender Mikroorganismen im Umlaufwasser	55
3.2.4	Parameter zur biologischen Abbaubarkeit.....	56
3.2.5	Bewuchs der Aufwuchsträgeroberfläche	57
3.3	Diskussion.....	58
4	Untersuchungen zur Biozönose im Umlaufwasser zweier Großanlagen ...	62
4.1	Material und Methoden	63
4.1.1	Kultivierung von Mikroorganismen aus dem Umlaufwasser - Gewinnung von Reinkulturen.....	63
4.1.2	Vergleich mit der Labormischkultur KS-7D.....	63
4.1.3	Selektives Festmedium mit ausgewählten Kohlenstoffquellen	64
4.1.4	Selektives Flüssig-Mineralsalzmedium mit ausgewählten Kohlenstoffquellen ..	64
4.1.5	Modifizierung der Kulturmedien.....	65
4.1.6	Bestimmung des Gram-Verhaltens, Katalase - Nachweis und Oxidasetest.....	65
4.1.7	Weitere stoffwechselphysiologische Differenzierung mittels standardisierter Testsysteme	65

4.2	Ergebnisse	67
4.2.1	Mikroorganismenkultivierung	67
4.2.2	Selektive Fest- und Flüssigmedien	72
4.2.3	Gram-Verhalten , Katalase - Nachweis und Oxidasetest.....	74
4.2.4	Differenzierung mittels standardisierter Testsysteme	75
4.3	Diskussion.....	78
5	Gesamtdiskussion.....	83
6	Zusammenfassung.....	86
7	Literaturverzeichnis	89
Anhang	97
	Anhang A 1: Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien.....	97
	Anhang A 2: Zusammensetzung und Herstellung der Bestandteile für die Fest- und Flüssigmedien	99
	Anhang A- 3: Selektives cyanid- und fructosehaltiges Flüssig- Mineralsalzmedium für Laborrieselreaktor,Anreicherungskulturen, KBE - Bestimmungen und Flüssigmedien mit verschiedenen C-Quellen.....	101
	Anhang A- 4: Selektives cyanidhaltiges (0,5 mM) Festmedium mit verschiedenen C- Quellen (nach Bryniok, modifiziert nach Sallat und van Lackum)	102
	Anhang A- 5: Anleitungen.....	103
	Anhang A- 6: Eigenschaften der Bakterienstämme <i>Cupriavidus eutrophus</i> und <i>Cupriavidus basilensis</i> (nach Bryniok, 2004)	104

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Flammkaschieranlage.....	7
Abbildung 2: Verfahren zur biologischen Abluftreinigung	11
Abbildung 3: Verfahrensprinzip eines Biorieselbettektors	14
Abbildung 4: Laborrieselreaktor zur biologischen Elimination von Cyanwasserstoff	27
Abbildung 5: Schlingseil aus PP-Bändchenmaterial	28
Abbildung 6: UGN [®] -Langfaserfiltergranulat (TITK)	29
Abbildung 7: Mögliche mikrobielle Abbauewege von Cyanid durch KS-7D.....	30
Abbildung 8: Schematischer Aufbau des Laborrieselbettektors.....	32
Abbildung 9: Massenbilanz an Cyanid im System für die Versuchsvariante mit Schlingseil und Verlauf der optischen Dichte der Nährlösung während einer Versuchsdauer von 26 Tagen	36
Abbildung 10: Massenbilanz von Cyanid im System für die Versuchsvariante mit Granulat und Verlauf der optischen Dichte der Nährlösung während einer Versuchsdauer von 30 Tagen	37
Abbildung 11: Anteile aus den Massenbilanzen für die Steril- und Abbaueversuche beider Aufwuchsträgervarianten	38
Abbildung 12: Großanlage zur Reinigung cyanidbelasteter Abluftströme Firma bei der Firma CH. Müller	43
Abbildung 13: Schematische Darstellung des Verfahrensprinzips beider Großanlagen.....	45
Abbildung 14: Pall [®] -Ringe der Größen 50 (links) und 25 (rechts)	45
Abbildung 15: Polyethylensäcke gefüllt mit Schlingseil im Reaktorsumpf (links) und in Nahaufnahme (rechts).....	46
Abbildung 16: Quantitative Probenahme (volumenstrombezogen) des CN-Gehalts in der Abluft mit der Konstantstrompumpe GS 312 an der Reinluftabführung der Großanlage bei der Firma Vowalon.....	47
Abbildung 17: Versuchsaufbau für den Ausstrippvorgang des Cyanwasserstoffs aus der Umlaufwasserprobe mit anschließender alkalischer Bindung des Cyanids in NaOH- Lösung.....	48
Abbildung 18: Darstellung der jeweils über einen zweistündigen Zeitraum ermittelten CN- Konzentrationen in Roh- und Reinluft Großanlage Vowalon	51
Abbildung 19: Darstellung der jeweils über einen zweistündigen Zeitraum ermittelten CN- Konzentrationen in Roh- und Reinluft Großanlage CH. Müller	52
Abbildung 20: Darstellung der wöchentlich ermittelten pH-Werte und Konzentrationen an Gesamtcyanid im Umlaufwasser der Großanlage Vowalon	53

<i>Abbildung 21: Darstellung der wöchentlich ermittelten pH-Werte und Konzentrationen an Gesamtcyanid im Umlaufwasser der Großanlage CH. Müller</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 22: Ermittelte KBE-Werte (logarithmische Skaleneinteilung) pro mL cyanidverwertender Mikroorganismen, mit den dazugehörigen Fehlerbalken</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 23: Auf cyanidhaltigem (1 mM) TS-Agar gewachsene unterscheidbare Kolonien aus dem Ausstrich des Umlaufwassers der Großanlage CH. Müller</i>	<i>67</i>
<i>Abbildung 24: Auf cyanidhaltigem (1 mM) TS-Agar gewachsene unterscheidbare Kolonien aus dem Ausstrich des Umlaufwassers der Großanlage Vowalon</i>	<i>68</i>
<i>Abbildung 25: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Kulturen CH.MW (links) und CH.MT (rechts) bei 1000-facher Vergrößerung (Öl, 100 x 1,25).....</i>	<i>71</i>
<i>Abbildung 26: Impfausstriche der Kultur CH.GA auf TS-Agar bei Tageslicht (links) und mit UV-Beleuchtung bei einer Wellenlänge von 366 nm</i>	<i>72</i>

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Komponenten und die dazugehörigen Einflussfaktoren für die Bildung von Biofilmen.....</i>	<i>17</i>
<i>Tabelle 2: Reaktionen für den biologischen Abbau von freien Cyaniden, Nitrilen und Thiocyanaten</i>	<i>23</i>
<i>Tabelle 3: Gesamtbilanzen und Abbaugrade (Steril- und Abbauversuche) der am STFI durchgeführten Versuche mit den Aufwuchsträgervarianten Schlingseil und Granulat..</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 4: Ausgewählte Parameter zur Charakterisierung der Umlaufwässer mit den angewendeten Bestimmungsmethoden.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 5: Ermittelte Parameter zur biologischen Abbaubarkeit der Wasserinhaltsstoffe der Umlaufwasserproben.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 6: C:N:P-Verhältnisse und biochemische Abbaugrade der Umlaufwasserproben</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 7: Biochemische Reaktionen der standardisierten Testsysteme Oxi / Ferm Tube II und Enterotube II</i>	<i>66</i>
<i>Tabelle 8: Morphologische Eigenschaften der Kolonien sowie Gestalt und Beweglichkeit der untersuchten Mikroorganismen</i>	<i>69</i>
<i>Tabelle 9: Ergebnisse der Kultivierungsversuche mit selektiven Fest- und Flüssigmedien mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabelle 10: Ergebnisse der KOH,-LAAP,-Katalase-und Oxidasetests.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabelle 11: Ergebnisse der Differenzierungsversuche mittels standardisierter Testsysteme</i>	<i>75</i>
<i>Tabelle 12: Gegenüberstellung der ermittelten Ergebnisse für die beiden Reinkulturen der Labormischkultur KS-7D und den physiologischen Daten von Cupriavidus eutrophus und Cupriavidus basilensis</i>	<i>76</i>

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Benennung
BIA	Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit
BLU	Bayerisches Landesamt für Umweltschutz
BMWi	Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie
BSB ₅	Biochemischer Sauerstoffbedarf, in 5 Tagen
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
C	Kohlenstoff
CN ⁻	Cyanidion
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DIN	Deutsches Institut für Normung
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
HCN	Cyanwasserstoff
HCOOH	Ameisensäure, Methansäure
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
KBE	Koloniebildende Einheiten
KCN	Kaliumcyanid
KOH	Kaliumhydroxid
LAAP	L-Alanyl-Aminopeptidase
MPN	Most Probable Number
N	Stickstoff
NaOH	Natriumhydroxid
NH ₃	Ammoniak
NH ₄	Ammonium
OD	Optische Dichte
PP	Polypropylen
PUR	Polyurethan
TA	Technische Anleitung
TITK	Thüringisches Institut für Textil- und Kunststoff-Forschung e.V.
TS	Trockensubstanz
TS-Agar	Trypton-Soya-Agar
STFI	Sächsisches Textilforschungsinstitut
UV	Ultraviolett
VDI	Verein Deutscher Ingenieure

1 Einleitung

Cyanidemmissionen, die durch industrielle Prozesse in die Umwelt gelangen, stellen aufgrund ihrer Menge und Toxizität ein Problem bezüglich der Umweltgefährdung dar. Die einzelnen Cyanidspezies unterscheiden sich dabei untereinander bezüglich der Toxizität erheblich (Oelsner et al., 2001). Wasserlösliche Cyanide, zu denen u. a. der Cyanwasserstoff (HCN) gehört, sind äußerst giftig und als hochgradig wassergefährdend eingestuft. Cyanid ist ein Atmungsgift, dessen Giftwirkung auf der Blockade der Cytochromoxidase, dem terminalen Enzym der Atmungskette, durch Bindung des dort enthaltenen Eisens beruht (Schlegel, 1992).

Ein industrieller Verursacher von Cyanidemmissionen stellt bisher die Flammkaschierung dar, die für die Herstellung von Verbundmaterialien aus Polyurethanschaumstoffen (PUR) und Textilien, Leder oder Kunstleder derzeit aus wirtschaftlichen Gründen noch breite Anwendung findet. Durch das Anflammen der Schaumoberfläche können unter anderem Emissionen an Cyanwasserstoff, Acrylnitril (C_3H_3N), anderen Nitrilen ($R-CN$) und Isocyanaten ($R-CNO$) auftreten (BIA, 1994; BLU, 2004). Dem Cyanwasserstoff kommt dabei bezüglich der Ökotoxizität die größte Bedeutung zu. Die bei der Flammkaschierung entstehenden Abgase werden abgesaugt und ins Freie geleitet. Die bisher aus der Abwasserbehandlung bestehenden Techniken zur Cyanidentgiftung, bei denen es sich meist um Oxidationsmethoden handelt, sind zu teuer oder zu ineffizient (Bryniok, 2004).

Da Cyanide und deren Verbindungen in der Natur vielseitig vorkommen, existieren auch natürliche Mechanismen, durch welche diese Verbindungen biologisch abgebaut bzw. verwertet werden können (Ebbs et al., 2006). Cyanidabbauende Mikroorganismen und die natürlichen Abbaumechanismen sind zum Teil untersucht und beschrieben (Ebbs et al., 2006). Ein kostengünstiger Lösungsansatz zur der Behandlung cyanwasserstoffhaltiger Abluftströme besteht daher in der biologischen Abluftreinigung. Im Jahr 2004 konnte aus kontaminierten Standorten von Kokereibetrieben die Mischkultur KS-7D, bestehend aus *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis*, isoliert werden, die in der Lage ist, Cyanid mit hohen Umsatzraten zu oxidieren. KS-7D zeichnet sich durch eine außerordentlich hohe Toleranz gegenüber Cyanid sowie durch seine gute und einfache Immobilisierbarkeit aus. Die Mischkultur ist daher für Anwendungen in Biofiltern, Biowäschern und Biorieselbettreaktoren geeignet (Bryniok, 2004).

Im Rahmen des BMWi-Forschungsprojektes (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie) „Minderung von Cyanidemissionen bei der Flammkaschierung - Biologischer Abluftfilter zur Cyanid-Elimination in der Textilveredlungsindustrie“ wurde von den am Projekt beteiligten Partnern ein Konzept eines Biorieselbettverfahrens zur effektiven Reinigung HCN-belasteter Abluftströme aus Flammkaschiervorgängen entwickelt. Neben erfolgreichen Abbauversuchen mit der Mischkultur KS-7D und der Untersuchung des Eliminationsverhaltens bei Verwendung verschiedener Aufwuchsträger im Labor, konnte die Funktionstüchtigkeit des biologischen Verfahrens im Pilotmaßstab (Kubikmetermaßstab) nachgewiesen werden (Mählmann und Sallat, 2008). Auf der Grundlage gewonnener Erkenntnisse wurden im Jahr 2008 bei den flammkaschierenden Betrieben Vowalon (Treuen) und CH. Müller (Netzschkau) zwei Großanlagen errichtet, um daran das Verfahren der biologischen Abluftreinigung langfristig auf seine Effizienz und Prozessstabilität zu untersuchen.

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurde ein Verfahrenskonzept mit kontinuierlich cyanidbelasteten Abluftströmen im Labormaßstab erprobt. Dabei wurde das Systemverhalten bezüglich der Cyanwasserstoffelimination bei Einsatz einer textilen Aufwuchsträgervariante aus Polypropylen ohne Wasserspeicherkapazität und eines granulären Aufwuchsträgers aus Polypropylen- und Viskosefasern mit Wasserspeicherkapazität untersucht.

Bei beiden Großanlagen wurde anhand ausgewählter Parameter, wie zum Beispiel die Cyanidkonzentration in Roh- und Reinluft, die Effizienz und die Prozessstabilität über einen 15-wöchigen Zeitraum untersucht. Des Weiteren wurden mit Hilfe einfacher mikrobiologischer Differenzierungsmethoden Untersuchungen an Mikroorganismen vorgenommen, die aus den Umlaufwässern beider Anlagen isoliert wurden, um einen Eindruck von der Mikroflora der Anlagen zu erhalten.

1.1 Cyanide

1.1.1 Formen und Einteilung von Cyaniden

Cyanide können als Cyanwasserstoff (HCN), als Cyanid-Ionen (CN⁻), als komplex gebundene Cyanide, als organische Verbindungen, die Cyan-Gruppen enthalten, und als Chlorcyan vorliegen (Oelsner et al., 2001). Unterschieden wird nach den Deutschen Einheitsverfahren zwischen leicht freisetzbaren Cyaniden (auch freie Cyanide) und Gesamtcyaniden (DEV, 1981).

Zu der Gruppe der leicht freisetzbaren Cyanide gehören die Blausäure (Cyanwasserstoff), ihre Alkali- und Erdalkalisalze sowie die schwach komplexen Cyanide des Cadmiums, Zinks, Silbers und Kupfers und alle weiteren Cyanide, die durch Chlor zerstört werden können. Leicht freisetzbare Cyanide spalten bei Raumtemperatur und einem pH-Wert von 4 Cyanwasserstoff ab. Da Eisen, Cobalt und Gold starke Cyanokomplexe bilden, gehören sie nicht zu den leicht freisetzbaren Cyaniden.

Unter den Begriff Gesamtcyanid fallen die Summe der einfachen und komplex gebundenen Cyanide sowie diejenigen organischen Cyan-Gruppen enthaltenden Verbindungen, die unter den Bedingungen des Normverfahrens (DEV-DIN 38-504) Cyanwasserstoff abspalten (DEV-DIN 38-504). Eine Zwischenstellung nehmen Nickel-Komplexe ein. Die CN⁻-Gruppen der als Gesamt-Cyanid definierten Verbindungen können sich im Wasser ganz oder teilweise zu Cyanid-Ionen oder Cyanwasserstoff umsetzen.

Einzeln zu erfassen sind Nitrile (R-CN), Acetonitril (C₂H₃N), Benzonitril (C₆H₅CN), Cyanat-Ionen (OCN⁻), Thiocyanat-Ionen (SCN⁻) und Chlorcyan (ClCN) (DEV 1981, Oelsner et al., 2001).

1.1.2 Cyanwasserstoff (HCN)

Cyanwasserstoff ist eine farblose, äußerst giftige Verbindung von charakteristischem Bittermandelgeruch. Die Verbindung hat einen Schmelzpunkt von -14°C und einen Siedepunkt von 26°C . Der Flammpunkt liegt bei -20°C . Die Zündtemperatur wird mit 535°C angegeben. Cyanwasserstoff ist mit Wasser und Ethanol beliebig mischbar, mit Wasser bildet es Blausäure. Dissoziiert liegt es als Cyanidion (CN^-) vor. Der Dampfdruck von Blausäure liegt mit 0,687 hPa sehr hoch. Reine Blausäure ist daher sehr flüchtig. Als schwache Säure ($K_S = 4,8 \cdot 10^{-10} \text{ mol/L}$) liegt sie in sauren und neutralen Wässern als leicht flüchtiger Cyanwasserstoff, im alkalischen Bereich als Cyanid-Ion vor. Bei einem pH-Wert von 9,2 verteilt sich der Cyanwasserstoff je zur Hälfte auf die undissoziierte und die ionische Form. Liegen die pH-Werte unter 11,5, geben Cyanidlösungen Blausäure an die Luft ab (Oelsner et al., 2001; Ghosh et al., 2006 A).

1.1.3 Toxische Wirkung von Cyaniden

Gemessen an der letalen Dosis ist freies Cyanid das stärkste Gift innerhalb der anorganischen Chemie. Toxisch wirkt ausschließlich das Cyanid-Anion bzw. die Säure (HCN). Die maximale Arbeitsplatz-Konzentration (MAK) beträgt 11 mg/m^3 und die tödliche Dosis für den Menschen bei akuten Vergiftungen liegt bei $1 \text{ mg CN}^-/\text{kg}$ Körpergewicht (Neumüller, 1981). Das komplex gebundene Cyanid, welches meist an verunreinigten Standorten anzutreffen ist, hat keine direkte toxische Wirkung. Es handelt sich hierbei insbesondere um die teilweise sehr stabilen Cyanokomplexe der Schwermetalle Eisen, Nickel, Chrom und Kupfer. Diese Cyanokomplexe sind zwar weit weniger giftig als freies Cyanid, gelangen sie jedoch in Oberflächengewässer, so kommt es unter Einwirkung von Sonnenlicht zur teilweisen Dissoziation und damit zur Freisetzung von freiem Cyanid (Förstner et al., 1997; Horstkotte, 2006).

Die Giftwirkung beruht darauf, dass das Cyanid-Ion von der Cytochromoxidase, dem zentralen Enzym der Atmungskette, gebunden wird. Dadurch ist kein Sauerstoffübertrag vom Hämoglobin auf das Gewebe möglich und die Zellatmung ist damit blockiert. Dies wiederum führt zum Tod der Zelle, da die Energiegewinnung zum Erliegen kommt. Da Zellen mit besonders hohem Energieumsatz, wie zum Beispiel Nervenzellen des Gehirns, zuerst absterben, fallen lebenswichtige zentralnervöse Steuermechanismen aus und der Organismus stirbt (Fent, 2003).

Auch für Pflanzen stellt Cyanid ein Atmungsgift dar. Es erfolgt hier eine Hemmung der Elektronentransportkette (Hemmung einer Cytochromoxidase). Cyanide sind ebenfalls giftig für viele Mikroorganismen, wie Pilze, Bakterien und Algen (Dubey und Holmes, 1995; Förstner et al., 1997).

1.1.4 Vorkommen und Verwendung von Cyaniden

Die Herkunft von Cyaniden in der Umwelt kann natürliche oder anthropogene Ursprünge haben. Natürliche Quellen können eine Reihe von Pflanzen, Pilze, Bakterien und Tieren sein (Dubey and Holmes, 1995).

Bei der pflanzlichen Synthese von Cyanwasserstoff, der Cyanogenese, erfolgt eine enzymatische Spaltung von cyanidhaltigen Verbindungen, den cyanogenen Glykosiden. Derzeit sind ca. 10 000 Pflanzenarten bekannt, die cyanogene Glykoside enthalten. Viele dieser Pflanzenarten sind Nutzpflanzen, wie beispielsweise Maniok, Flachs, Hirse und Bohnen (Knowles, 1976; Oelsner et al., 2001). Cyanide werden durch eine Vielzahl von Pilzen, insbesondere durch *Basidiomyceten* und *Ascomyceten* produziert. Bei den Bakterien sind weniger Arten bekannt, die Cyanogenese betreiben. Aber *Chromobacterium violaceum* sowie einige Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* und *Pseudomonas fluorescens* sind hochproduktiv cyanogen (Knowles, 1988).

Die Produktion von HCN durch Tiere ist fast ausschließlich auf die Spezies der Gliederfüßer begrenzt. Weiterhin können einige photosynthetisch aktive Mikroorganismen wie Algen und Bakterien Cyanwasserstoff produzieren. Der Sinn der mikrobiellen Cyanogenese ist nur teilweise verstanden. Viele Organismen benutzen Cyanide zur Abwehr von Fressfeinden und zur Inhibierung des Wachstums anderer Pilze und Bakterien in ihrer Umgebung (Wong-Chong et al., 2006 B). Dass durch die Cyanogenese Stickstoff zum Wachstum geliefert wird, gilt als sicher. In der Diskussion sind die Energiegewinnung und die Verwertung des Kohlenstoffs (Mansfeld, 2003).

Obwohl viele natürliche Cyanid-Quellen existieren, gelangt der bedeutendste Anteil an Cyaniden in Form von industriellen Abprodukten in die Umwelt (Dubey und Holmes, 1995). In der Industrie wird Cyanwasserstoff meist aus Methan und Ammoniak hergestellt und findet im Wesentlichen als Zwischenprodukt bei der Herstellung von synthetischen Fasern, Kunststoffen, Unkrautbekämpfungsmitteln, Farben und Lacken, Pharmazeutika und speziellen Chemikalien Verwendung (Wong-Chong et al., 2006 A, Mansfeld, 2003).

Cyanwasserstoff wird außerdem im Vorratsschutz in Mühlen, Schiffen, Speichern u. a. als Begasungsmittel verwendet (Oelsner et al., 2001). Im Jahr 2001 betrug die weltweite Produktion von Cyanwasserstoff nahezu 2,6 Millionen Tonnen (Wong-Chong et al., 2006 A). Durch Neutralisation der Blausäure mit Natron- oder Kalilauge werden Alkalicyanide (Weltjahresproduktion: Hektotonnenmaßstab) erzeugt. Diese Alkalicyanide werden in der Aufbereitung von Gold- und Silbererzen (Cyanidlaugerei), der Oberflächenhärtung (Carbonitrierung) von Stahl sowie in der Galvanotechnik (alkalische Cyanidbäder für Kupfer, Silber, Gold u. a.) verwendet.

Neben diesen technischen Anwendungen und den daraus resultierenden Emissionen, kommt es allerdings auch zur unbeabsichtigten Freisetzung cyanidhaltiger Verbindungen durch Unfälle (Oelsner et al., 2001). Am 30. Januar 2000 brach der Damm eines Auffangbeckens eines Goldbergwerkes im Rumänischen Baja Mare. Schätzungsweise 100.000 Kubikmeter Cyanid- Lauge flossen in den Fluss Theis und gelangten bis in das Donaudelta, was zur Folge hatte, dass mehrere Tausend Tonnen Fische verendeten. Es wird geschätzt, dass bei diesem Unfall zwischen 50 und 100 Tonnen Cyanid in den Fluss gespült wurden (Wong-Chong et al., 2006 B).

1.2 Flammkaschierung

Ein Problem bezüglich der Cyanidemission stellen die Abgase aus der Flammkaschierung dar. Bei der Verbundherstellung mittels Flammenkaschierung wird die Schaumoberfläche mit Hilfe eines Breitschlitzbrenners beflammt und sofort mit der textilen Warenbahn unter Druck zusammen geführt, wobei der oberflächlich angeschmolzene Schaum als Kleber dient. Anschließend passiert der Verbundstoff eine Kühlwalze, wobei sich das Polyurethan (PUR) verfestigt. Die bei der Beflammung entstehenden Abgase werden abgesaugt und ins Freie geleitet (Bock et al., 1995; BLU, 2004). In Abbildung 1 ist eine Flammenkaschieranlage dargestellt.



Abbildung 1: Flammkaschieranlage

Flammkaschierte Produkte finden neben ihrem Einsatz in Sportböden, Prallschutzwänden, Schreibunterlagen und Reinigungshilfen (Pad-Schwämme) hauptsächlich Verwendung in der Automobilindustrie.

Bei der Herstellung von Kaschierverbunden aus Polyurethanschaumstoffen und Textilien, Kunstleder oder Leder können Emissionen an Cyanwasserstoff, Acrylnitril, anderen Nitrilen, Isocyanaten, Aldehyden, Halogenkohlenwasserstoffen sowie an Benzol und 1,2-Dichlorethan auftreten (Bock et al., 1995; BLU, 2004). Von den genannten Emissionen kommt dabei dem Cyanwasserstoff als Hauptkomponente im Abgas die größte Bedeutung bezüglich der Umweltgefährdung zu.

1.2.1 Derzeitige Situation

Derzeit sind in Deutschland ca. 35 Flammkaschieranlagen (Stand 2008) in Betrieb (Helmert, 2008). Typisch sind anlagenbezogene Abgasvolumenströme von ca. 12.000-20.000 m³/h bei einer Abgastemperatur von ca. 30° C. Mit bis zu 80 g/h HCN wird zum Teil der Grenzwert nach der Technischen Anleitung (TA) Luft deutlich überschritten (Mählmann und Sallat, 2008). Der Grenzwert nach TA- Luft liegt bei 15 g/h bzw. 3 mg/m³ (2,7 ppm). Deshalb ist bezüglich der Umweltgefährdung eine Abluftreinigung für die betreffenden Unternehmen unumgänglich. Ein Ansatz für die Substitution der Flammkaschierung durch ein anderes Verfahren besteht in der Klebekaschierung. Bei diesem Verfahren werden jedoch weitere organische als auch anorganische Stoffe emittiert. Typisch sind z.B. Formaldehyd, Ammoniak, Styrol, Butadien und Acrylate (Mählmann und Sallat, 2008).

Auf Grund spezifischer Kundenanforderungen und des Kostendrucks in der Automobilzulieferindustrie, einem der wichtigsten Abnehmer von flammkaschierten Produkten, ist auf absehbare Zeit auch nicht mit einem Ersatz dieser preiswerten Technologie zu rechnen. Vielmehr wird in der letzten Zeit zunehmend die Produktion von der Klebekaschierung wieder auf die Flammkaschierung zurück verlagert (Mählmann und Sallat 2008).

Neben der Suche nach kostengünstigen und umweltfreundlichen Alternativen für diese Art der Beschichtung, wird nach Lösungen gesucht die Cyanidbelastung in der Abluft flammkaschierender Unternehmen zu senken und auch zukünftigen Ansprüchen gerecht zu werden.

1.2.2 Stand der Technik bei der Cyanidelimination

Behandlungstechniken für cyanidhaltige Abwässer sind bekannt (Hartinger, 2001). Abgesehen von Strippverfahren mit anschließender Verbrennung, wie sie in großen Chemiekomplexen üblich sind, sind Oxidationsverfahren die üblichen Methoden der Cyanidentgiftung (Morper, 2000).

Zur Oxidation von Cyaniden kommt derzeit hauptsächlich Hypochlorit zum Einsatz, welches im basischen Milieu Cyanid über Chlorcyan zu ungiftigem Cyanat oxidiert. Bei gleichzeitigem Vorhandensein organischer Substanzen entstehen dabei aber auch unerwünschte chlorierte organische Nebenprodukte (AOX), die wiederum aufwendig entsorgt werden müssen

(Bryniok, 2004). Ein weiterer Nachteil dieses Verfahrens ist die relativ lange Reaktionszeit und die unerwünschte Aufsalzung des Abwassers (Wurster, 1999; DE000002353559A, 1974).

Deshalb wird zunehmend auf andere Verfahren mit aktiveren Sauerstoffverbindungen zurückgegriffen: Oxidation mit Wasserstoffperoxid (H_2O_2) oder Ozon (O_3) (auch in Kombination mit ultraviolettem (UV) Licht). Wasserstoffperoxid stellt ein preiswertes Oxidationsmittel dar, eine vollständige Oxidation kann jedoch nicht garantiert werden. Die Oxidation mit Ozon ermöglicht eine vollständige Entgiftung, auch in der Gasphase. Nachteilig wirken jedoch die Kosten der Ozonherzeugung und hohe Investitionskosten aufgrund eines nachzuschaltenden Katalysators zur Erhöhung des Entgiftungsgrades und zur Vernichtung von Restozon (Morper, 2000).

Ein generelles Problem bei Oxidationsverfahren ist das Vorhandensein anderer leicht oxidierbarer Substanzen, wie zum Beispiel Nitrit, Eisen II oder organische Hydroxyl- und Ketoverbindungen. Diese Verbindungen verbrauchen ebenfalls Oxidationsmittel, so dass der Oxidationsmittelverbrauch ein Vielfaches des stöchiometrischen Bedarfs von Cyanid erreichen kann (Morper, 2000; Ghosh et al., 2006 B).

Die anodische Oxidation (Elektrolyse) ermöglicht eine vollständige Entgiftung von Cyaniden und ist koppelbar mit gleichzeitiger kathodischer Reduktion von Metallen (Rückgewinnung). Ein Kostenvorteil gegenüber anderen Verfahren ergibt sich jedoch nur aufgrund der Rückgewinnung von Metallen an der Kathode. Daher beschränkt sich die Eignung dieses Verfahrens auf Galvanikbetriebe.

Durch Hydrolyse bei hohen Temperaturen kann ebenfalls eine vollständige Entgiftung erreicht werden. Aus den dafür notwendigen hohen Drücken und Temperaturen ergeben sich sehr hohe sicherheitstechnische Anforderungen und damit hohe Kosten.

Ein weiteres Verfahren stellt die Fällung mit Eisensalzen dar. Es ermöglicht die Entfernung von 92 – 95% der Cyanidionen aus der wässrigen Phase. Problematisch ist dabei jedoch das Anfallen von Schlamm und die damit verbundene Entsorgungsthematik (European Commission (EC), 2005; Ghosh et al., 2006 C; DE000002353559A, 1974).

Nach dem derzeitigen Stand der Technik ist bis auf wenige Einzelfalllösungen keine praktikable technische Lösung für die Reinigung cyanidhaltiger Abluft bekannt. Lediglich ein

Niedertemperaturplasma-Verfahren ermöglicht die Spaltung von HCN– Molekülen und eine weitere Senkung der Kohlenstoff-Fracht. Der Bau einer solchen Anlage erfordert allerdings mit weit über 200.000 Euro ein sehr hohes Investitionsvolumen. In Österreich arbeitet seit dem Jahr 2004 eine Abluftreinigungsanlage auf Basis einer thermischen Oxidation. Bei angenommen 4.000 Betriebsstunden pro Jahr und 22.000m³ N/h Abluft können Emissionen von rund 10.000 kg flüchtige organische Verbindungen, 8.800 kg Feinstaub und 970 kg HCN pro Jahr vermieden werden (Mählmann und Sallat, 2008).

1.3 Biologische Abluftreinigung

Eine Alternative zu chemisch / physikalischen Lösungsansätzen besteht in der biologischen Abluftreinigung. Das Prinzip der biologischen Abgasreinigung basiert auf dem Stoffwechsel von Mikroorganismen. Sie verwerten die biologisch abbaubaren Abluftinhaltsstoffe für den Baustoffwechsel und zur Energiegewinnung und bewirken damit einen Abbau toxischer und nicht toxischer Verbindungen zu Kohlendioxid, Wasser oder anderen anorganischen Bestandteilen (Mineralisierung). Voraussetzung für eine biologische Abluftreinigung ist die prinzipielle biologische Abbaubarkeit der betreffenden Abgasinhaltsstoffe (Stephan, 2005). Bei den Verfahren der biologischen Abluftreinigung sind die an der biologischen Umsetzung des Schadstoffes beteiligten Mikroorganismen in Form von Biofilmen auf Trägermaterialien immobilisiert oder sind in der wässrigen Phase suspendiert. Da die meisten gasförmigen Verbindungen auf Grund ihres Aggregatzustandes nicht bioverfügbar sind, müssen sie in Lösung gebracht werden. Gelingt es, diese Verbindungen in Lösung zu bringen, können die Stoffe durch Mikroorganismen aufgenommen werden (Bartholmes et al., 1996). Dementsprechend haben sich drei große Gruppen von biologischen Abluftreinigungsanlagen etabliert: die Biofilter, die Biowäscher und die Membranbioreaktoren (Abbildung 2).

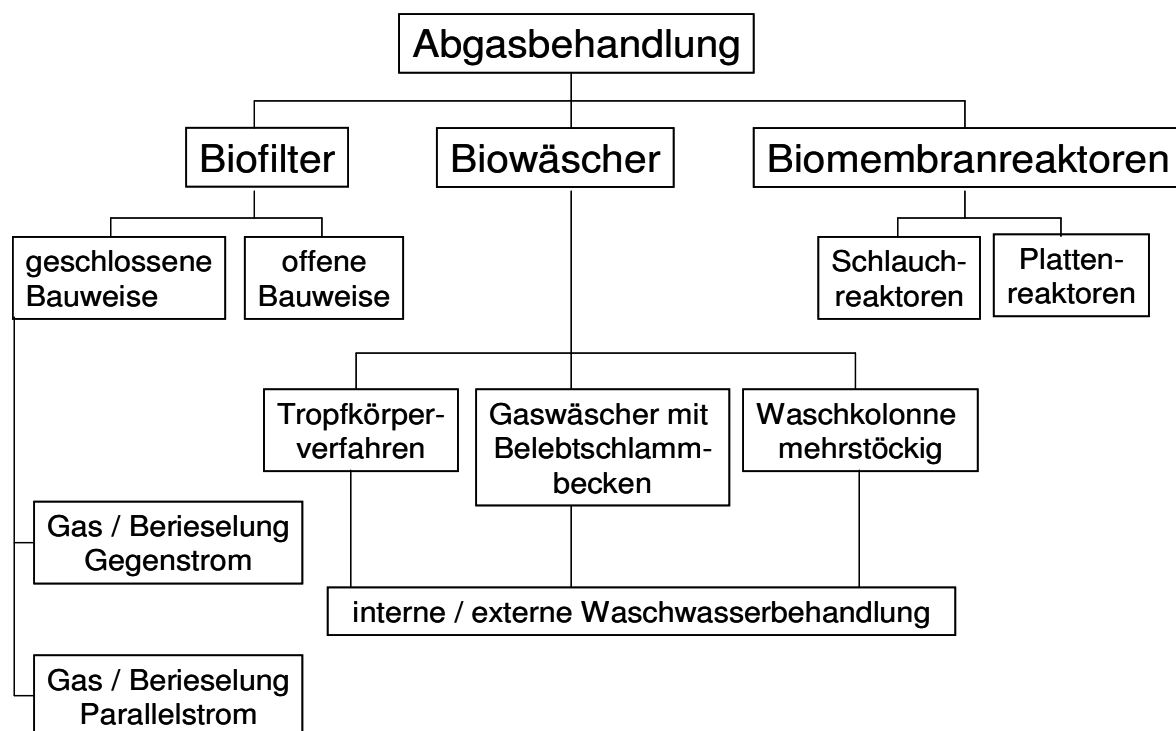


Abbildung 2: Verfahren zur biologischen Abluftreinigung (nach Raphael, 1996)

Biofilter, Biowäscher und Membranreaktor unterscheiden sich hauptsächlich darin, wie die schadstoffhaltige Abluft und die Mikroorganismen miteinander in Kontakt gebracht werden.

Beim Biofilterverfahren wird der Abgasstrom durch ein Filterbett mit organischem Material wie Torf, Kompost, Baumrinde oder ähnliches geleitet. Auf den eingesetzten Filtermaterialien entwickelt sich über einen längeren Zeitraum eine für den Schadstoffabbau geeignete Mischpopulation (Stephan, 2005; Umweltbundesamt, 2003). Da die Bakterien nur im feuchten Milieu überleben können, wird die Schüttung mit Wasser befeuchtet oder die eingeblasene Luft wird mit Wasser abgesättigt, so dass Gas und Flüssigkeit zusammenhängende Phasen bilden. Der Schadstoffübergang stellt eine Kombination aus Lösung des Schadstoffs im Wasser und Adsorption des Schadstoffs am Filtermaterial und damit den darauf immobilisierten Mikroorganismen dar (Bartholmes et al., 1996). Die Schadstoffe werden durch Adsorption gebunden und von den Mikroorganismen verstoffwechselt. Nach mehrmonatiger oder mehrjähriger Laufzeit werden die organischen strukturbildenden Bestandteile durch biologischen Abbau zersetzt, und die Luft- bzw. Gasdurchlässigkeit verschlechtert sich. In der Folge ist ein Druckanstieg zu verzeichnen, was die Auflockerung oder die Erneuerung des Filtermaterials notwendig macht. Grund für den allmählichen Leistungsabfall infolge der Verdichtung des Filtermaterials sind die Abbauaktivitäten der Mikroorganismen, die nicht alleine auf den zugeführten abzubauenen Luftschadstoff ausgerichtet sind, sondern auch organische Bestandteile des Filtermaterials zersetzen. Biofilter werden zur Reinigung von Abluftströmen mit geringer Beladung eingesetzt (Raphael, 1996).

Der Biowäscher hingegen ermöglicht den Stoffumsatz höher konzentrierter, biologisch abbaubarer Substanzen aus Abgasen (Bank, 2000). Hier erfolgt zunächst die Entfernung der Luftschadstoffe durch Absorption in eine zusätzliche, umlaufende flüssige Phase. Eine Regeneration der Umlaufflüssigkeit erfolgt durch frei suspendierte oder auf geeigneten inerten Trägermaterialien, wie zum Beispiel Kunststoffen, immobilisierten Mikroorganismen.

Wenn Absorptions- und Regenerationsphase in zwei baulich getrennten Vorrichtungen stattfinden, wird von einem entkoppelten Biowäscher gesprochen. Bei dem gekoppelten Verfahren erfolgen die Absorption und der biologische Abbau in einem Reaktor. Sofern es sich um abbaubare Stoffe handelt, erfolgt die Regeneration des Waschwassers hauptsächlich durch Mikroorganismen, die auf festen Einbauten oder Füllkörpern mit spezifischen Oberflächen angesiedelt sind (Stephan, 2005).

Beim Biomembranverfahren wird zwischen Gas und Flüssigkeit eine Permeationsmembran gebracht, welche die Aufgabe hat, die Abluftinhaltsstoffe absorptiv zu binden, anzureichern und sie dann den abbauenden Mikroorganismen zur Verfügung zu stellen. Die

Mikroorganismen besiedeln die Membran auf der Seite der flüssigen Phase. Anorganische Nährsalze werden über die flüssige Phase zu den Mikroorganismen transportiert. Mit Hilfe des Biomembranverfahrens ist es möglich auch schlecht wasserlösliche und leicht flüchtige Stoffe wie Aromaten mit den abbauenden Mikroorganismen in Verbindung zu bringen (Bank, 2000).

1.3.1 Biorieselbettreaktor

Beim Biorieselbettverfahren handelt es sich um ein eigenständiges Verfahren der biologischen Abluftreinigung, bei dem es allerdings in mehrerer Hinsicht zu Überschneidungen mit den beiden anderen biologischen Abluftreinigungstechniken Biofilter (VDI 3477) und Biowäscher (VDI 3478) kommt. Hier erfolgt eine Kopplung von Absorption und biologischem Abbau in einem Reaktor. Die typischen Anwendungsbereiche umfassen Massenkonzentrationen von organischen Verbindungen bis ca. 1 g/m^3 (VDI 3478, 2008).

Der Biorieselbettreaktor besteht aus einer inerten Füllkörperpackung, zum Beispiel Kunststoff, auf deren Oberfläche ein Biofilm angesiedelt wird. Das Trägermaterial dient als Siedlungsfläche für die Mikroorganismen, der Vergleichmäßigung der Abluftströmung sowie der Verteilung des Berieselungswassers. Es bildet die stationäre Phase (Packungsmaterial) und soll eine möglichst große Oberfläche zur Verfügung stellen, ohne dabei für Verstopfungen anfällig zu sein.

Um das für die Mikroorganismen unabdingbare wässrige Milieu bereitzustellen, wird Wasser im Kreislauf geführt und dabei kontinuierlich über den Tropfkörper einbauten verrieselt. Die zu reinigende Abluft wird dazu im Gleich- oder Gegenstrom geführt. Die Versorgung der Mikroorganismen mit den notwendigen Nährstoffen erfolgt durch die in der Gasphase enthaltenen abzubauenen Stoffe, die gelöst werden müssen, sowie durch Substrate, die bei Bedarf der Umlaufflüssigkeit zugegeben werden. Zur Konstanthaltung des pH-Werts ist in den Kreislauf des Berieselungswassers eine pH-Steuerung integriert. Die Berieselung wird so ausgelegt, dass dem Feuchtefilm keine auswaschende Wirkung zugeschrieben werden kann (VDI 3478, 2008).

In Abbildung 3 ist das Verfahrensprinzip eines Biorieselbettreaktors schematisch dargestellt.

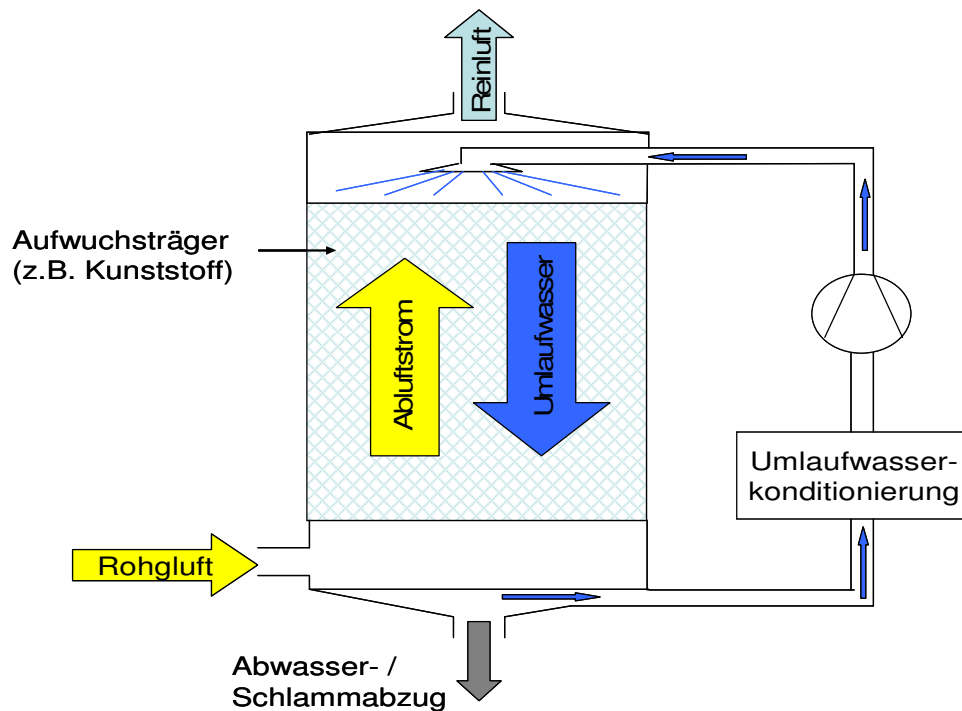


Abbildung 3: Verfahrensprinzip eines Biorieselbettreaktors (nach VDI 3478, 2008; Ottow und Bidlingmaier, 1997)

1.3.1.1 Stoffübergang von der Abgasphase in die wässrige Phase

Die entscheidenden Schritte beim Biorieselbettreaktor sind die Absorption in der wässrigen Phase und die Diffusion in der wasserseitigen Grenzschicht. Das Konzentrationsgefälle zwischen Abgas und Feuchtfilm bestimmt die Absorptionsgeschwindigkeit, für die die Löslichkeit des Abgasinhaltsstoffes in den Flüssigkeitsfilm entscheidend ist (VDI 3478, 2008). Als Kenngröße für die Wasserlöslichkeit dient der Henry- Koeffizient aus dem Henryschen Gesetz. Das Henry- Gesetz besagt, dass die Löslichkeit einer Substanz in Wasser proportional zur Konzentration der Substanz in der Gasphase ist. Um eine biologische Abluftreinigung von mehr als 90 % zu erreichen, muss der Henry Koeffizient kleiner als 5-10 sein (Fritzsche, 1998). Der Henry-Koeffizient für HCN bei einer Temperatur von 298,15 K beträgt $0,1184 \text{ mol}/(\text{m}^3 \text{ Pa})$ (Sander, 1999).

Eine hohe Konzentration in der Abgasphase und eine niedrige im Umlaufwasser verbessern den Übergang Gas / Wasser. Von ganz entscheidender Bedeutung ist daher die schnelle Umsetzung der Schadstoffe durch die Mikroorganismen des Biofilms, aber auch durch die in der wässrigen Phase frei suspendierten Zellen (Fritzsche, 1998).

1.3.1.2 Schadstofftransport aus der Gasphase in die Mikroorganismenzelle

Ein wichtiger für den Abbau geschwindigkeitsbestimmender Schritt ist die Aufnahme der abzubauenen Stoffe aus dem Feuchtfilmsfilm in die Mikroorganismenzelle. Je schneller der Abgasinhaltsstoff von der Mikroorganismenzelle verarbeitet wird, desto geringer ist seine Konzentration in der Zelle und desto besser ist der Übergang in die Zelle. Die bekannten Henry-Koeffizienten für den Übergang Gas / Wasser sind deswegen nicht ungeprüft übertragbar auf den Übergang Gas – Wasser - Biofilm (VDI 3478, 2008).

Wenn der gesamte Weg der Schadstoffmoleküle aus der Gasphase bis zu den Mikroorganismen betrachtet wird, so lässt sich feststellen, dass es sich hier um einen vielstufigen Vorgang handelt. Im Allgemeinen kann der Stoffübergang in folgende Schritte eingeteilt werden:

- I hauptsächlich konvektiver Transport der Moleküle im Gasraum bis zur gasseitigen Grenzschicht,
- II Diffusion durch die gasseitige Grenzschicht,
- III Absorptionsvorgang und Diffusion durch die wasserseitige Grenzschicht,
- IV Weitertransport in den Kern der Flüssigkeit durch Diffusion,
- V Diffusion durch die wasserseitige Grenzschicht beim Übergang in den Biofilm
- VI Diffusion durch die Grenzschicht im Biofilm und
- VII Aufnahme der Schadstoffmoleküle und Umsetzung durch die Mikroorganismen (Ottow und Bidlingmaier, 1997).

1.3.2 Schadstoffabbau mit immobilisierten Mikroorganismen

Neben den aus der Abwasserbehandlung bekannten biologischen Reinigungsverfahren, bei denen sich die Zellen frei suspendiert in Lösung befinden, wie zum Beispiel Batch-Verfahren, kontinuierliche, halbkontinuierliche und Belebtschlammverfahren, gelten biologische Prozesse, bei denen Mikroorganismen durch Biofilmbildung auf Oberflächen immobilisiert sind, ebenfalls als sehr effektive Reinigungsverfahren.

Die Substrate diffundieren in den Biofilm und werden dort von den Mikroorganismen im Zuge ihrer Stoffwechseltätigkeit abgebaut. Da die Zellen auf Oberflächen immobilisiert sind, können längere Zell-Verweilzeiten im Reaktor erreicht werden (Wong Shong und VanBriesen, 2006). Im Reaktorsumpf setzt sich hauptsächlich abgestorbenes Material ab. Bei Verfahren mit immobilisierten Zellen kommt es daher zu einer geringeren Schlammbildung als bei Verfahren mit frei suspendierten Zellen. Der Reinigungsbedarf wird dadurch verringert und damit die Standzeit des Reaktors verlängert (Bank, 2000).

Des Weiteren gibt es Erkenntnisse darüber, dass die in Biofilmen angeordneten Mikroorganismen gegenüber frei suspendierten eine Reihe von Vorzügen zeigen. Durch die Immobilisierung der Mikroorganismen auf geeignetem Trägermaterial wird eine Erhöhung der Biomassendichte erreicht. In suspendiertem Zustand sind Konzentrationen von $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Trockensubstanz (TS) erreichbar, während Biofilme in Abwasserreaktoren bis zu $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ TS enthalten können. Mischpopulationen von Mikroorganismen mit vielfältigen Stoffwechseleigenschaften können durch ihren engen Kontakt beim Abbau der organischen Substanz zusammenwirken (Ottow und Bidlingmaier, 1997). So werden oftmals deutlich höhere Raum-Zeit-Ausbeuten erzielt als mit konventionellen Verfahren, was unter anderem die Eliminierung hoher Konzentrationen und extremer Frachten von Umweltschadstoffen ermöglicht. Biofilme, insbesondere solche auf adsorptionsfähigen Trägern, sind dabei meist wenig empfindlich gegenüber Stoßbelastungen und besitzen vielfach eine herausragende Resistenz gegenüber toxischen Substraten und bakteriziden Wirkstoffen. Weiterhin werden durch adsorptive Anreicherung von Substraten auch Verbindungen aus vergleichsweise gering konzentrierten Lösungen mit genügend hohen Umsatzraten abgebaut. Besonderes Interesse erlangten Biofilmtechnologien jedoch vor allem für den biologischen Abbau hoch persistenter Verbindungen (Martienssen, 2001).

So berichteten Suh et al. (1994) u. a. darüber, dass mit den auf Zeolith immobilisierte Zellen von *Pseudomonas fluoreszens* (8 g/L Trockengewicht) innerhalb von zehn Stunden eine

Konzentration von 26 mg/L Cyanid vollständig abgebaut werden konnte. Der Abbau erfolgte viermal schneller als mit suspendierten Zellen. Auf Alginate immobilisierte Zellen von *Pseudomonas putida* zeigten eine effizientere Cyanid-Abbaurate (bis zu 120 mM) als nicht immobilisierte Zellen (bis 4 mM) in einem Zeitraum von 120 Stunden (Chapatwala et al., 1998).

1.2.3 Bildung und Aufbau von Biofilmen

Biofilme sind heterogene Biozönosen. Sie entstehen, wenn Mikroorganismen sich an Grenzflächen anlagern und dort wachsen. Die Bildung von Biofilmen hängt von dem Vorhandensein bestimmter Komponenten und deren Zusammensetzung ab: Medium (flüssige Phase), Substrat (feste Phase) und Mikroorganismen (zunächst partikulär dispergiert, dann Gelphase bildend). In Tabelle 1 sind die Komponenten und die dazugehörigen Einflussfaktoren zusammenfassend aufgeführt.

Tabelle 1: Komponenten und die dazugehörigen Einflussfaktoren für die Bildung von Biofilmen (nach Ottow und Bidlingmaier, 1997)

Medium	Substrat	Mikroorganismen
<ul style="list-style-type: none"> - Temperatur - pH-Wert - gelöste organische Stoffe - Oberflächenspannung - Viskosität - hydrodynamische Parameter (Scherströmungen, Druck) 	<ul style="list-style-type: none"> - chemische Zusammensetzung - Hydrophobizität - Oberflächenspannung - Oberflächenladung - biologische Affinität (Besiedelbarkeit, Rauigkeit, Porosität, Partikelgröße) 	<ul style="list-style-type: none"> - Zellzahl - Ernährungszustand - Spezies - Hydrophobizität - Oberflächenladung - EPS (Extrazelluläre polymere Substanzen) - Wachstumsphase

Die einzelnen Faktoren beeinflussen sich gegenseitig. Dadurch entsteht ein komplexes System von Wechselwirkungen, das kaum einen einheitlichen gültigen Adhäsionsmechanismus für alle Organismen an allen Oberflächen erwarten lässt. Dennoch lassen sich in der Entwicklung eines Biofilms generell drei verschiedene Stadien erkennen: Induktionsphase, Akkumulationsphase und Plateau-Phase (Ottow und Bidlingmaier, 1997).

Während der Induktionsphase bedeckt sich die Oberfläche des Substrats mit einem Basisfilm. Hierbei handelt es sich häufig um Mediumbestandteile und mikrobielle Stoffwechselprodukte wie Proteine, Huminstoffe und Polysaccharide. Der Basisfilm hat eine zäh schleimige Konsistenz und wirkt auf die Grenzfläche zwischen Substratum und Medium konditionierend.

In der anschließenden Akkumulationsphase besiedeln EPS- produzierende Bakterien den Basisfilm und führen so zum Aufwachsen eines Oberflächenfilms. Die Biofilm- Akkumulation wird in dieser Phase hauptsächlich durch das Wachstum der verschiedenen Organismen bestimmt. In dieser Phase entstehen Mikrokonsortien.

Das Erreichen der Plateau- Phase ist dadurch gekennzeichnet, dass sich ein Gleichgewicht zwischen Neubildung und Ablösung des Biofilms einstellt (Ottow und Bidlingmaier, 1997).

Die Hauptbestandteile von Biofilmen sind Wasser, EPS, Mikroorganismenkonsortien, eingelagertes partikuläres Material sowie gelöste Stoffe (Ionen und Substrate). Der Wasseranteil kann zwischen 50 und 95 % betragen. Die organische Masse des Biofilms ist überwiegend aus EPS (zwischen 60 und 98 % bezogen auf die Trockenmasse) aufgebaut. Die EPS verleihen dem Biofilm-Gel die Eigenschaften eines Molekularsiebes, einer Diffusionsbarriere und eines Sorbens. Abiotische Partikel können eingelagert sein und die Zusammensetzung des Biofilms beeinflussen. Biofilme können bis zu 10^{12} Zellen mL^{-1} enthalten. Die Mikrobiozönose kann aus Bakterien, Algen, Pilzen und Protozoen bestehen. Zwangsläufig sind auch Viren und Bakteriophagen darin enthalten (Ottow und Bidlingmaier, 1997).

Die Dicke von Biofilmen kann abhängig von wirkenden Scherkräften von wenigen Mikrometern bis einigen Zentimetern betragen. Wird der Biofilm zu dick, stellt der Biofilm selbst eine Transportbarriere für Nährstoffe dar, was zu einem Absterben von Zellen in den unteren Biofilmschichten damit zu einem Ablösen von Flocken führt, die dann Verstopfungen in einem Biofilmreaktor hervorrufen können (Ottow und Bidlingmaier, 1997; VDI 3478, 2008).

1.4 Cyanidabbau- und Verwertung durch Mikroorganismen

Trotz der hohen Toxizität von Cyanid gibt es eine Reihe von Mikroorganismen, die in der Lage sind Cyanid zu verwerten bzw. abzubauen. Viele Arten von Pilzen und Bakterien können Cyanid verwerten und nutzen es als Kohlenstoffquelle und /oder Stickstoffquelle, in der Regel über die Bildung von Ammoniak (NH_3) als Zwischenprodukt (Dubey und Holmes, 1995).

Cyanidabbauende Mikroorganismenarten wurden bisher hauptsächlich aus Abwässern, Klärschlamm und Böden isoliert. Unter den Bakterien befinden sich u. a. Spezies der Gattungen *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Klebsiella* und *Citrobacter*. Unter den Pilzen befinden sich beispielsweise Spezies der Gattungen *Fusarium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Penicillium* und *Rhizopus* (Ebbs et al., 2006).

Die mikrobielle Verwertung und Abbau von Cyaniden wird seit Mitte der 50-iger Jahre untersucht. Seither wurden umfangreiche Erkenntnisse über die für den Cyanid-Abbau verantwortlichen Organismen, die Abbauewege mit den beteiligten Enzymen sowie über die Bedingungen, unter denen der Abbau stattfindet gesammelt (Ebbs et al., 2006).

Der biologische Cyanidabbau durch Pilze wurde beispielsweise durch Ezzi und Lynch (2004) beschrieben. Sie untersuchten unter anderem das Abbauverhalten von *Trichoderma* spp. und *Fusarium* spp. mit Cyanid als einzige Kohlenstoffquelle und bei Zusatz von Glucose als Co- Substrat. Eine Abbauleistung von 2000 ppm CN^- wurde durch die Anwesenheit von Glucose um das Dreifache verbessert. Harris und Knowles berichteten über die Umwandlung von Cyanid in Ammoniak (NH_3) durch einen Stamm von *Pseudomonas fluorescens*, welcher Cyanid als Stickstoffquelle für das Wachstum verwertet (Dubey und Holmes, 1995; Harris und Knowles, 1983; Ezzi und Lynch, 2004).

1.4.1 Bedingungen für den mikrobiellen Cyanidabbau

Bei einigen Mikroorganismenarten wurde die Fähigkeit nachgewiesen, Cyanide und deren Verbindungen als alleinige Stickstoff- und Kohlenstoffquelle zu nutzen. Nawaz et al. (1991) berichteten von einem Stamm von *Pseudomonas aeruginosa*, der in der Lage war Aceonitrile als Quelle für Stickstoff und Kohlenstoff zu nutzen.

Strobel und Skowronski (1969) untersuchten das Wachstum eines Stammes von *Bacillus pumilus* mit Cyanid als einzige Kohlenstoff- u. Stickstoffquelle. Hier wurde berichtet, dass das Bakterium befähigt war in einer Kaliumcyanid-Lösung (KCN) mit einer Konzentration von bis zu 2,5 M (65 g/L Cyanid) zu überleben.

Häufig beobachtet wurde, dass Cyanide (freie Cyanide, Metall-Cyanid-Komplexe oder Thiocyanate) durch einige Mikroorganismenstämme als Stickstoffquelle verwertet werden können. Dazu ist die Anwesenheit verschiedener Kohlenstoffquellen, die als Co-Substrate dienen, notwendig. Solche Kohlenstoffquellen können Phenole, Acetate oder einfache Zucker wie zum Beispiel Glucose sein (Ebbs et al., 2006; Fallon, 1992; Luque-Almagro et al., 2004).

Neben Kohlenstoff und Stickstoff sind noch andere essentielle Nährstoffe, wie zum Beispiel Phosphat, für das Bakterienwachstum notwendig. Weitere Einflussfaktoren auf die Abbaubarkeit sind Temperatur, die Salinität des Mediums, die Bioverfügbarkeit, Löslichkeit und Konzentration der Cyanidverbindungen und die Anwesenheit von Inhibitoren. Zum Beispiel kann in Reinkulturen ohne Eisenelimination der Abbau der Eisencyanidkomplexe zum Erliegen kommen, weil das gebildete Nitrat besonders auf Pseudomonaden toxisch wirken kann (Oelsner, 2001; Wong Shong und VanBriesen, 2006). Ebenfalls kann die Anwesenheit anderer Stickstoffquellen, wie Ammonium (NH_4^+), aufgrund einer einfacheren Abbaubarkeit den Cyanidabbau inhibieren (Mählmann und Sallat, 2008).

Die physikochemischen Bedingungen unter denen Bakterien Cyanidverbindungen abbauen, können stark variieren. Neben zahlreichen Veröffentlichungen über den Cyanid-Abbau im neutralen pH-Bereich, finden sich auch Berichte über den bakteriellen Abbau von Cyanidverbindungen im sauren (pH 4,0) und alkalischen Bereich (pH>9). Luque Almagro et al. (2004) berichteten über den bakteriellen Abbau von Cyanidverbindungen durch einen Stamm von *Pseudomonas pseudoalcaligenes* in einem Milieu mit einem pH-Wert von 9,5. Der Abbau von Cyanidverbindungen ist in Abhängigkeit vom Organismus unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen möglich (Ebbs et al., 2006; Fallon, 1992).

1.4.2 Mikrobielle Abbauewege

Frühere Studien haben gezeigt, dass einige Stämme der Bakterienarten *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus megaterium* und *Escherichia coli* Cyanidverbindungen über mehrere Abbauewege umsetzen können (Ebbs et al., 2006). Generell lassen sich die Abbauewege von Cyaniden durch Mikroorganismen in vier Typen einteilen: Substitution / Addition, Hydrolyse, Oxidation und Reduktion.

Substitution und Addition werden als assimilatorische Abbauewege bezeichnet. Cyanid-Assimilation durch Bakterien kann durch Substitutionsreaktionen erfolgen, die durch eines der drei Pyridoxalphosphat-Enzyme katalysiert werden: Cystein-Synthase, β -Cyanoalanin-Synthase oder γ -Cyano- α -Aminobuttersäuresynthase. Diese Abbauewege erfordern ein Gerüst mit drei Kohlenstoffatomen um das Cyanid-Ion (CN^-) zu binden, was dazu führt, dass im Austausch gleichzeitig ein charakteristisches Ion abgegeben wird. Das Produkt dieser Substitutionsreaktionen ist das Nitrilderivat einer α -Aminosäure. Die produzierten Nitrile und die weitere Verarbeitung dieser Verbindungen unterscheiden sich in den einzelnen Abbauewegen sowie unter den einzelnen Bakterienarten (Ebbs et al., 2006). Eine Möglichkeit besteht in der Hydrolyse der Produkte, wobei NH_3 und eine Säure wie zum Beispiel Ameisensäure (HCOOH) entstehen (Knowles 1976, Dubey and Holmes, 1995).

Manche Bakterienarten, wie zum Beispiel *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Thiobacillus denitrificans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Klebsiella pneumoniae*, und *Azotobacter vinelandii* sind in der Lage mit Hilfe des Enzyms Rhodanase (Thiosulfat-Schwefel-Transferase) Schwefel von Thiosulfat auf das Cyanid-Ion zu übertragen, wobei Thiocyanate entstehen (Raybuck, 1992). Diese Thiocyanate können dann weiter abgebaut werden, entweder durch eine Hydrolase oder eine Cyanase (Tabelle 2) (Ebbs et al., 2006). Der Abbau von Thiocyanaten durch den Schimmelpilz *Acremonium strictum* wurde durch Kwon et al. (2002) untersucht

Oxidation, Reduktion und Hydrolyse sind Cyanid-Abbauewege, bei denen das Cyanid in einfache Verbindungen (Formamide, Ameisensäure, Ammoniak und Methan) umgewandelt werden, welche dann vom Organismus als Kohlenstoff- oder Stickstoffquelle verwertet werden.

Der bei Dubey and Holmes (1995) als „Snow mould“ bezeichnete Schimmelpilz¹ verwendet eine Cyanid-Hydratase (Tabelle 2). zum Abbau von Cyanid-Verbindungen. Das Ergebnis dieses Abbauweges ist die irreversible Umwandlung von Cyaniden in Formamide, welche dann zu Kohlenstoffdioxid (CO₂) und NH₃ verstoffwechselt werden. Über die Benutzung u. a. dieses Abbauweges durch das Bakterium *Pseudomonas fluorescens* berichtete Kunz et al. (1992).

Für den oxidativen Abbau wird Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NAD(P)H) benötigt, um den sauerstoffabhängigen biologischen Cyanid-Abbau zu katalysieren. Für diese Reaktion sind zwei mögliche Abbauege bekannt. Eine Cyanid-Monooxygenase wandelt HCN in Cyanat (HOCN) um (Tabelle 2), was dann durch eine Cyanase weiter zu NH₃ und CO₂ abgebaut wird. Dieser Abbauege wurde u. a. durch Harris und Knowles (1983) an einem Stamm von *Pseudomonas fluorescens* untersucht.

Ein zweiter Oxygenase-Abbauege, welcher beispielsweise bei *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli* und *Bacillus pumilus* nachgewiesen wurde, beinhaltet eine enzymatische Reaktion, welche durch eine Cyanid-Dihydrogenase katalysiert wird (Tabelle 2). In dieser Reaktion wird Cyanid direkt ohne Zwischenschritt in NH₃ und CO₂ umgewandelt (Ebbs et al., 2006).

Der reduktive Abbauege von freien Cyaniden findet hauptsächlich unter anaeroben Bedingungen statt. Es wird vermutet, dass die Abbaureaktion in Bakterien wie *Rhodopseudomonas gelatinosa* und *Klebsiella oxytoca* durch das Enzym Nitrogenase katalysiert wird. Wird HCN durch die Nitrogenase umgesetzt, entstehen über weitere Zwischenschritte in der weiteren Folge NH₃ und Methan (CH₄) (Ebbs et al., 2006).

¹ Nach Datenbankabfrage DSMZ handelt es sich bei „Snowmould“ vermutlich um *Microdochium nivale*

Tabelle 2: Reaktionen für den biologischen Abbau von freien Cyaniden, Nitrilen und Thiocyanaten (nach Ebbs et al., 2006; Raybuck, 1992; Dubey und Holmes, 1995)

Freie Cyanide und Nitrile	
<i>Hydrolytische Reaktionen</i>	
<u>Cyanid Hydratase:</u> $\text{HCN} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCONH}_2$	<u>Cyanidase:</u> $\text{HCN} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCOOH} + \text{NH}_3$
<u>Nitril Hydratase:</u> $\text{R} - \text{CN} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R} - \text{CONH}_2$ (nach Ebbs et al., 2006)	<u>Nitrilase:</u> $\text{R} - \text{CN} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R} - \text{COOH} + \text{NH}_3$
<i>Oxidative Reaktionen</i>	
<u>Cyanid Monooxygenase:</u> $\text{HCN} + \text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{NAD(P)H} \rightarrow \text{HOCN} + \text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O}$	
<u>Cyanid Dioxygenase:</u> $\text{HCN} + \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + \text{NAD(P)H} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + \text{NAD(P)}^+$	
<i>Reduktive Reaktionen</i>	
$\text{HCN} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_2 = \text{NH} \rightarrow \text{CH}_2 = \text{NH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_2 = \text{O}$ <div style="text-align: center;"> \downarrow $\text{CH}_2 = \text{NH} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_3 - \text{NH} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_4 + \text{NH}_3$ </div> (nach Ebbs et al., 2006)	
<i>Assimilation</i>	
<u>Additionsreaktion / Substitutionsreaktion:</u> $\text{CN}^- + \text{S} \rightarrow \text{SCN}^-$ $\text{CN}^- + \text{RX} \rightarrow \text{R-CN}$ (nach Raybuck, 1992) <u>Rhodanase:</u> $\text{CN}^- + \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{SCN}^-$ (nach Dubey und Holmes, 1995)	
Thiocyanate	
<u>Thiocyanat-Hydrolase:</u> $\text{SCN}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{COS} + \text{NH}_3 + \text{OH}^-$	
<u>Cyanase:</u> $\text{SCN}^- + 3\text{H}_2\text{O} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{CNO}^- + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$ <div style="text-align: center;"> \downarrow $\text{CNO}^- + 3\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+ + 2\text{CO}_2$ </div> (nach Ebbs et al., 2006)	

1.4.3 Einsatz und Ausbildung heterogener Kulturen bei der Cyanidelimination

Biologische Verfahrenstechniken zum Schadstoffabbau, die als offene Systeme betrieben werden, führen meist zur Ausbildung heterogener Kulturen, die in einem gut aufeinander abgestimmten Zusammenspiel verschiedener Organismen in einer Biozönose münden (Bartholmes et al., 1996). Ein Beispiel für eine cyanidabbauende Gemeinschaft von Mikroorganismen ist eine Mischkultur von *Serratia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella* und *Pseudomonas*, über die Kang und Kim (1993) berichteten. Die Zusammensetzung der Mikroflora ist variabel und passt sich an die Zustände im System (Temperatur, pH-Wert etc.) und an die Zusammensetzung der Abluft an (VDI 3478, 2008). Dies bedeutet, dass viele, mitunter mehr als 100 Arten von Bakterien, gleichzeitig anwesend sein können. Davon haben relativ wenige einen hohen Anteil am Gesamtumsatz und an der Prozessstabilität. Diese Proportionen werden weitestgehend durch die Prozessbedingungen bestimmt (Fritzsche, 1998).

Die mikrobielle Abbaubarkeit hängt nicht alleine von der chemischen Konstitution eines Substrates ab, sondern auch von den hydrodynamischen, physikochemischen und biochemischen Bedingungen. Isoliert man einzelne Mikroorganismen aus einer Biozönose und setzt sie in technischen Prozessen als Reinkultur an, kann es zur Bildung von toxischen Verbindungen kommen, die in der Mischkultur nicht auftreten. Dies liegt daran, dass in einer Mischkultur kometabolische Abläufe eine wichtige Rolle spielen: Ein Organismus benötigt hierbei zum Umsatz eines Substrates eine zweite Substanz, die hierdurch zwar modifiziert, aber nicht abgebaut wird. In der Mischkultur gibt es einen weiteren Mikroorganismus, der dieses Co-Substrat abbauen kann.

Mikroorganismen stellen Bioindikatoren dar. Wenn nur wenige verschiedene Spezies in einer Mischkultur gefunden werden, deutet dies auf einen extremen Selektionsdruck hin, zum Beispiel durch toxisch wirkende Substanzen (Bartholmes et al., 1996). Cyanide wirken, abhängig von der vorliegenden Konzentration, toxisch auf viele Mikroorganismenarten. Jedoch ist auch große Anzahl von Bakterien, wie *Arthrobacte*, *Bacillus* und *Pseudomonas* befähigt Cyanide und deren Verbindungen abzubauen. Diese Arten wurden häufig in Mischpopulationen aus Anlagen der Abwasserbehandlung isoliert.

Neben cyanidabbauenden Bakterien sind häufig auch nitrifizierende Bakterien in cyanidabbauenden Mischkulturen zu finden. Nitrifizierer sind obligatorisch aerob. Das Ammoniak, welches im Zuge des Cyanid-Abbaus durch andere Organismen der Mischkultur

gebildet wird, benutzen die Nitrifizierer als Elektronen-Donor. Als Kohlenstoffquelle werden anorganische Kohlenstoffverbindungen benutzt. Eine Störung im Cyanidabbau reduziert nicht nur die Verfügbarkeit von Ammonium für die Nitrifizierer sondern setzt sie damit auch höheren Cyanidkonzentrationen aus, die die Stoffwechseltätigkeit hemmen. In Cyanid eliminierenden Systemen wachsen Nitrifizierer langsamer als die cyanidabbauenden Mikroorganismen.

Alle derzeit bekannten biologischen Reinigungsanlagen zur Cyanid-Elimination arbeiten mit Mikroorganismen-Mischpopulationen (Wong Shong und VanBriesen, 2006).

2 Laborrieselbettreaktor

Seit dem Jahr 2006 wurde im Rahmen des BMWi-Forschungsprojektes „Minderung von Cyanidemissionen bei der Flammkaschierung – Biologischer Abluftfilter zur Cyanidelimination in der Textilveredlungsindustrie“ am Sächsischen Textilforschungsinstitut e.V. ein Rieselbettreaktor im Labormaßstab zur biologischen Reinigung cyanwasserstoffhaltiger Abluft betrieben.

Bisher wurden Abbauversuche mit verschiedenen Aufwuchsträgermaterialien durchgeführt. Zu Beginn wurden Versuche mit granulärem Aufwuchsmaterial auf Cellulosebasis, welches mit Eisenhydroxid und Aktivkohle versetzt war, durchgeführt. Später wurden ein am STFI gefertigter textiler Aufwuchsträger, ein Schlingseil aus Polypropylen-Bändchen (PP-Bändchen) (siehe Kapitel 2.1.1), sowie ein granulärer Aufwuchsträger aus Styropor in mehreren Abbauversuchen mit dem Laborrieselbettreaktor eingesetzt und damit das Eliminationverhalten von Cyanwasserstoff untersucht. Die Versuche wurden im diskontinuierlichen Verfahren (Einmal-Beladung mit Cyanid) durchgeführt. Das Verfahrensprinzip bedingte eine asymptotische Abnahme der HCN-Konzentration im Gasstrom während der Versuchsdauer. Bei den Versuchen wurden Ausgangsmassen zwischen 215 und 260 mg Cyanid eingesetzt. Der Gasstrom wurde in eine Nährlösung eingeleitet, die zur Berieselung des Aufwuchsträgermaterials im Kreislauf geführt wurde.

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurden Optimierungen an der Laboranlage vorgenommen. Um die Konzentration an Cyanwasserstoff im Gasstrom während der Versuchsdauer relativ konstant zu halten und die Ausgangsmasse an Cyanid deutlich senken zu können, wurde das Verfahrenskonzept von bisher Einmal-Beladung auf quasikontinuierliche Belastungsströme umgestellt. Des Weiteren wurde der Cyanwasserstoff nicht in die Nährlösung, sondern direkt durch die Filterpatrone geleitet. Außerdem wurde das Volumen der Nährlösung von bisher 250 mL auf 100 mL bei den Versuchen mit Schlingseil aus PP-Bändchen reduziert. Durch diese Änderungen sollte ein Cyanidabbau, der bisher möglicherweise hauptsächlich in der Nährlösung stattfand, in die Filterpatrone verlagert werden. Die kontinuierliche Verfahrensweise erlaubte außerdem, den Versuchszeitraum für die Abbauversuche von zwei auf vier Wochen zu erhöhen.

Mit diesem umgestellten Verfahren wurde mit zwei verschiedenen Aufwuchsträgervarianten das Systemverhalten bezüglich der Cyanwasserstoffelimination untersucht.

Bei allen durchgeführten Versuchen wurde wie in allen vorangegangenen Abbauprobversuchen am STFI die Mischkultur KS-7D eingesetzt.

In Abbildung 4 ist die Versuchsanlage dargestellt.



Abbildung 4: Laborrieselbettreaktor zur biologischen Elimination von Cyanwasserstoff

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Aufwuchsträgermaterialien

Es wurden zwei Aufwuchsträgervarianten in den Abbauprobungen eingesetzt. Dabei handelte es sich um ein Schlingseil aus Polypropylen-Bändchenmaterial (Abbildung 5) ohne Wasserspeicherkapazität sowie um ein granuläres Material aus einem PP-Viskose-Gemisch (Abbildung 6) mit Wasserspeicherkapazität.



Abbildung 5: Schlingseil aus PP-Bändchenmaterial

Das Schlingseil wurde aus biegesteifem profilierten PP-Bändchenmaterial (Breite 5 mm, Dicke 0,5 mm) mittels KEMAFIL -Technologie gefertigt. Die Maschenweite des Schlingseiles betrug 20 mm. Der Durchmesser des Schlingseiles betrug ca. 17-20 mm. Ein 1 m langes Stück des PP-Schlingseils besaß eine Oberfläche von 0,13 m² und wog ca. 14 g. Das Aufwuchsträgermaterial zeichnete sich besonders durch sein geringes Eigengewicht und seine netzartige offene Struktur aus. In vorangegangenen Versuchen am STFI zeigte sich, dass sich die Mischkultur KS-7D auf PP-Bändchenmaterial des textilen Aufwuchsträgers gut immobilisieren lässt. PP ist ein Material, dass eine gute Beständigkeit gegenüber biologischen und chemischen Angriffen aufweist und ist daher für den Einsatz in Bioreaktoren gut geeignet. Im Folgenden wird der Aufwuchsträger aus PP-Bändchenmaterial hier nur noch als Schlingseil bezeichnet.

Bei dem zweiten in den Versuchen eingesetzten Aufwuchsträgermaterial handelte es sich um das UGN[®] -Langfaserfiltergranulat (TITK). Im Folgenden wird das Material nur noch als Granulat bezeichnet. Das Granulat bestand in Anteilen zu 30 % aus Polypropylen und 70 % aus Viskose und war mit Eisen beladen. Beide Materialien wiesen eine faserartige Struktur auf und waren ineinander zu zylinderförmigen Einheiten verdreht, die eine Länge von ca.

15 mm und einen Durchmesser von ca. 6 mm aufwiesen. In geometrischer Annäherung (Zylinder) wurde die Oberfläche mit ca. $33 \text{ cm}^2/\text{g}$ abgeschätzt. Es war jedoch davon auszugehen, dass das Material eine größere wirksame Oberfläche besaß, da das Granulat aus einzelnen Fasern bestand. Die Schüttdichte des Materials betrug ca. 170 kg/m^3 . Die maximale Wasseraufnahmekapazität entsprach ca. dem Vierfachen der Trockenmasse des Granulats.



Abbildung 6: UGN[®]-Langfaserfiltergranulat (TITK)

Die in den Versuchen eingesetzte Füllkörperpatrone war befüllt mit 1 m Schlingseil. Das entsprach einer Oberfläche von ca. $0,13 \text{ m}^2$. Die Füllung der Tropfkörperpatrone mit Granulat wog ca. 42 g, was einer Gesamtoberfläche der einzelnen Zylinder (Vernachlässigung der einzelnen Faserflächen) von ca. $0,14 \text{ m}^2$ entsprach.

2.1.2 KS -7D

Durch das Fraunhofer Institut für Grenzflächen-und Bioverfahrenstechnik (IGB) konnte von einem ehemaligen Kokereistandort ein Mikroorganismus mit einem Cyanid hydrolisierenden Enzym isoliert werden. Eine taxonomische Bestimmung, die von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) in Braunschweig durchgeführt wurde, ergab, dass es sich bei KS-7D um eine Mischkultur von *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* aus der Familie der *Burkholderiaceae* handelt.

Beide Bakterien sind Gram-negative, peritrich begeißelte Stäbchen von $0,6\text{-}0,7 \mu\text{m}$ Breite und $1,5$ bis $3 \mu\text{m}$ Länge. Unterschiede sind lediglich in der Fähigkeit der Nitratreduktion

sowie der Verwertung von Citrat festgestellt worden (siehe Anhang A-6). Der Cyanidabbau wird von einer Cyanid-Hydrolase katalysiert. Dabei wird Cyanid in Ammonium und Formiat (HCOO^-) gespalten. Beide Produkte werden KS-7D jeweils als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle genutzt. Darüber hinaus ist KS-7D fähig, Cyanid-Komplexe wie Hexacyanoferrat III und II und sogar Preußisch Blau, einen der stabilsten Metallkomplexe, abzubauen (Bryniok, 2004).

Die möglichen Abbauewege von Cyanid sind in Abbildung 7 dargestellt.

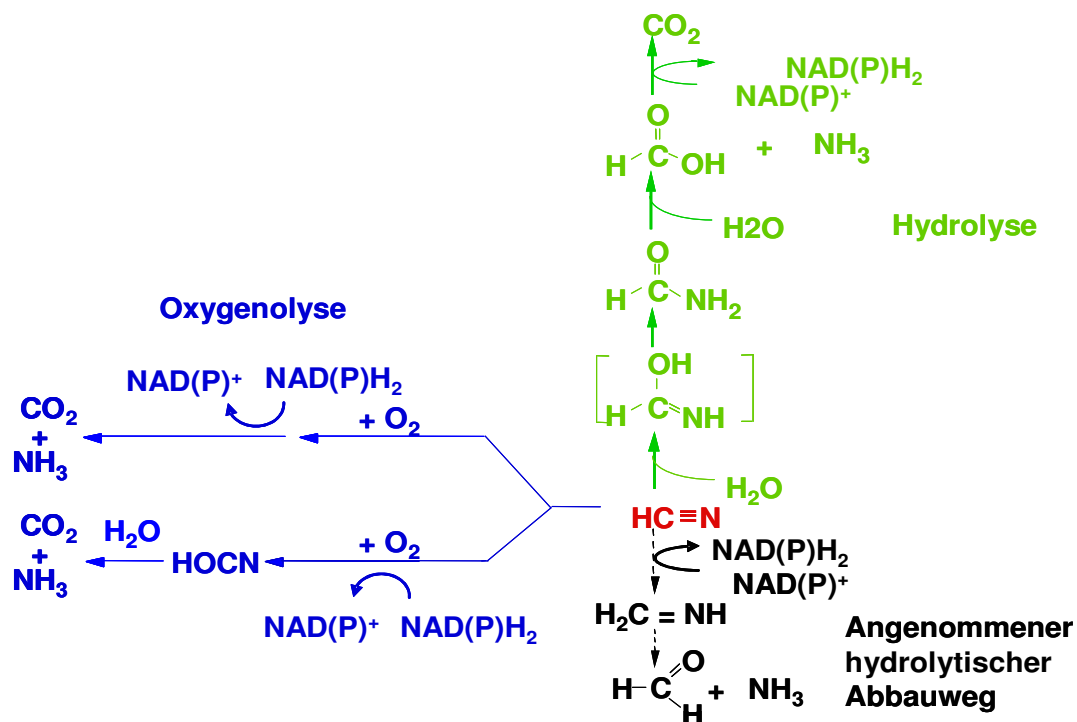


Abbildung 7: Mögliche mikrobielle Abbauewege von Cyanid durch KS-7D (nach Bryniok, 2004)

Von den dargestellten Abbauewegen ist die Hydrolyse (grün) von Herrn Dr. Bryniok vom IGB nachgewiesen. Formamid (CH_3NO) wird dabei zwar als toxisches Zwischenprodukt gebildet, bleibt aber am Enzym gebunden und wird schnell zu NH_4^+ und Formiat umgesetzt. Solange KS-7D nicht wächst, wird NH_4^+ auch bis zu einem gewissen Maß intrazellulär gespeichert. Auf Grund der einfacheren Verwertbarkeit kommt es zu einem verminderten HCN-Abbau bei Vorliegen von Ammonium oder Ammoniak (Bryniok pers. Mitteilung). Die Mischkultur zeigt sich außerordentlich tolerant gegenüber Cyanid. KS-7D verträgt Konzentrationen bis zu 55 mM (1,4 Gramm pro Liter). Bis zu einer Konzentration von 0,25 mM (6,5 Milligramm pro Liter) ist kein toxischer Effekt erkennbar. Liegt Cyanid in höherer Konzentration als 0,25 mM vor, wird es von KS-7D ohne bakterielles Wachstum abgebaut, bis die Cyanidkonzentration unter 0,25 mM absinkt und das Bakterienwachstum einsetzt.

Cyanid kann auf Grund seiner hohen Toxizität KS-7D nicht alleinige Kohlenstoffquelle für das Wachstum dienen. Die dafür benötigten Konzentrationen an Cyanid würden die hohen Toleranzgrenzen von KS-7D immer noch übersteigen. Daher wird zusätzlich eine Kohlenstoff- und Energiequelle wie z. B. Fruktose, verschiedene organische Säuren, Phenole oder andere aromatische Verbindungen benötigt.

Die höchste bisher beobachtete Umsatzrate lag bei 13 mg Cyanid pro Liter Stunde und mg Trockengewicht. Diese Abbaurate wurde bei optimalen Bedingungen (pH 7,5 bis 8,5 und 30 bis 40 °C) gemessen. Bei pH 5,5 oder 10 und 15 °C oder 45 °C lag die Abbaurate bei 50 Prozent der maximalen Abbaurate. Des Weiteren zeichnet sich dieser Mikroorganismus durch eine gute und einfache Immobilisierbarkeit aus und ist daher geeignet, auf Festbetten zur Abwasser- und Abluftreinigung eingesetzt zu werden (Bryniok, 2004).

2.1.2.1 Sterilisation der Gefäße und Medien

Die Sterilisation der Gefäße und Medien erfolgte im Dampfsterilisator (Zirbus; Bad Grund) bei 121 °C und 0,2 bar für 20 Minuten. Eine Sterilisation der Kaliumcyanidlösung (100 mM), die für die Herstellung der Nährmedien benötigt wurde, erfolgte durch Sterilfiltration mit einem Membranfilter (Zellulosemischester-Membran, 0,2 µm Porenweite).

2.1.2.2 Kultivierung der Mikroorganismen

Die Kultivierung der Labormischkultur KS-7D erfolgte in 200 mL-Kulturflaschen auf einer Magnetrührplatte bei Raumtemperatur (ca. 25° C). Es wurden 99 mL eines selektiven cyanidhaltigen (1 mM) Mineralsalzmedium (siehe Anhang A -3) mit 1 mL der Vorkultur beimpft. Die Überführung in frisches Medium erfolgte jeweils nach 4 Wochen. Das Wachstum wurde anhand von Trübungsmessungen kontrolliert. Für die Abbauprobversuche wurde der Kulturansatz verwendet, der bei allen bisher am STFI durchgeführten Abbauprobversuchen zum Einsatz kam und seit der Inkulturnahme am STFI in regelmäßigen Abständen in frisches Nährmedium überführt wurde.

2.1.3 Versuchsaufbau

In einem Vorlagegefäß wurden 2100 mL einer wässrigen Kaliumcyanidlösung (KCN-Lösung) mit einer CN⁻ - Konzentration von 8 mg/L (20 mg/L KCN) bereitgestellt. Durch Einblasen von Luft (5,8 L/h) in die Lösung mittels einer Pumpe (MP 500, Behr Labor-Technik GmbH, Düsseldorf) wurde Cyanwasserstoff aus der schwefelsauren Lösung (98 %, pH < 2) ausgestrippt. Der aus der Lösung ausgetriebene Cyanwasserstoff wurde über eine

Schlauchverbindung direkt durch die mit Aufwuchsträgermaterial befüllte Filterpatrone geleitet.

Die Filterpatrone war auf ein Vorratsgefäß aufgesetzt, in dem sich je nach eingesetztem Trägermaterial 100 mL (Schlingseil) bzw. 250 mL (Granulat) einer mit der Mischkultur KS-7D angeimpften cyanidhaltigen (1 mM) Nährlösung (Rezept nach Bryniok, siehe Anhang A- 3) befanden. Für den Versuch mit Granulat war aufgrund der Wasserspeicherkapazität (siehe Kapitel 2.1.1) des Materials ein größeres Nährlösungsvolumen notwendig. Die Nährlösung wurde mit Hilfe einer Peristaltikpumpe (PLP 66, Behr Labor-Technik-GmbH, Düsseldorf) zur Befeuchtung (3,7L/h) über der Tropfkörperfüllung (Aufwuchsträger) verrieselt, sodass der HCN-Strom und die Nährlösung im Gegenstrom durch die Filterpatrone geführt wurden. Restkonzentrationen an Cyanid wurden oben aus der Filterpatrone über eine Schlauchverbindung in eine Waschflasche mit 250 mL Natriumhydroxid-Lösung (NaOH-Lösung, 1mol/L) zugeführt und dort gebunden. Zur Sicherheit wurde der ersten Waschflasche noch eine zweite Waschflasche mit 250 mL NaOH-Lösung (1mol/L) nachgeschaltet. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 8 schematisch dargestellt.

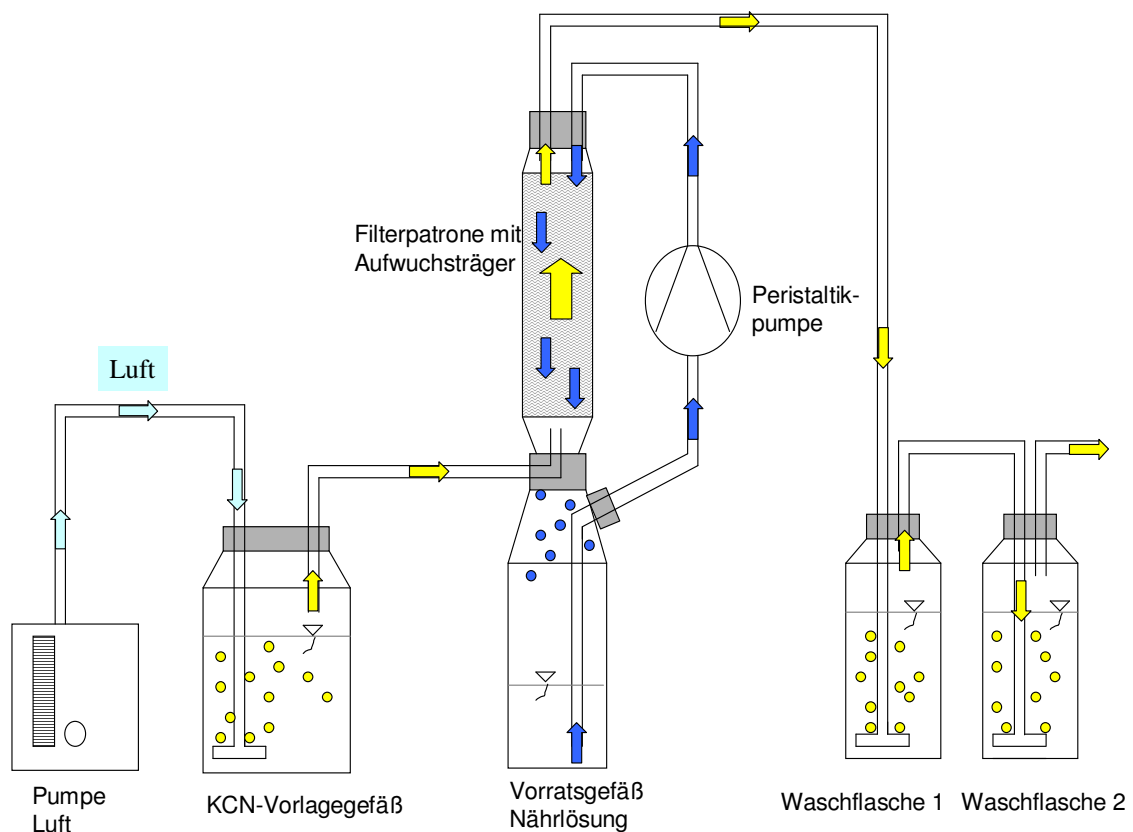


Abbildung 8: Schematischer Aufbau des Laborrieselbettreaktors

2.1.3.1 Sterilversuche

Um die biologische Umsetzung von Cyanid von anderen chemisch / physikalischen Reaktionen (Adsorption, Absorption an unterschiedlichen Materialien des Systems) und systembedingten Verlusten unterscheiden zu können, wurden mit den eingesetzten Trägermaterialien Sterilversuche jeweils über einen zweiwöchigen Versuchszeitraum durchgeführt.

2.1.3.2 Kontinuierliche Betriebsweise der Versuchsanlage

Zu Versuchsbeginn wurde die Nährlösung in der Anlage ohne Begasung mit HCN im Kreislauf geführt bis eine Eintrübung der Nährlösung feststellbar war. Dies sollte einen Aufwuchs der Mischkultur sowie die Befeuchtung des Systems sicherstellen. Bei den Sterilversuchen wurde die Dauer dieser Anlaufphase auf jeweils 3 Tage beschränkt.

Die Versuche wurden gestartet mit einer Cyanid-Konzentration von 8 mg/L im Vorlagenbehälter. In einem Vorversuch wurde mit Hilfe einer Massenbilanz der KCN-Lösung festgestellt, dass in 24 Stunden bei den oben genannten Einstellungen durchschnittlich ca. 4 mg Cyanid aus der Lösung ausgestrippt wurden. Um quasi kontinuierliche Belastungsströme während der Versuchsdauer zu gewährleisten, wurde ab dem zweiten Versuchstag der Verlust von 4 mg Cyanid jeweils nach der täglichen Probenahme ausgeglichen (10 mL einer wässrigen KCN-Lösung mit einer Konzentration von 1 g/L). Die tägliche Zudosierung der Kohlenstoffquelle erfolgte im Stickstoff - Kohlenstoff- Verhältnis von 1:12. Dazu wurden 3 mL einer sterilen Fructose-Lösung (steril) über die Öffnung der Tropfkörperpatrone in die Nährlösung zudosiert. An den Wochenenden erfolgte nur die Berieselung der Filterpatrone, jedoch keine Probenahme und Begasung der Filterpatrone um jeweils den Anlagenstillstand zu simulieren.

2.1.3.3 Nasschemische Bestimmung des Gesamtcyanidgehalts

Um eine Bilanz zum Verhalten des Cyanids im System erstellen zu können, erfolgte täglich eine nasschemische Analyse der KCN-Lösung, der Nährlösung und der NaOH-Lösungen zur Bestimmung des Gesamtcyanids. Die Bestimmung des Gesamtcyanids erfolgte durch Abtrennung des Cyanwasserstoffs und nachfolgende maßanalytische Bestimmung der Cyanid-Ionen durch Titration mit Silbernitrat-Lösung (0,001 M) und Endpunktbestimmung mit p - Dimethylaminobenzobenzylidenrhodanin als Indikator nach DIN 38 405-D13-1-2. Grundlage des Verfahrens ist die Erkennung des Titrations-Endpunktes durch Bildung einer

roten Silberverbindung des Indikators p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin bei Auftreten eines Überschusses an Silber-Ionen (Farbwechsel von gelb nach rot). Das Verfahren eignet sich für alle Absorptionslösungen, die mehr als 0,05 mg Cyanid-Ionen enthalten.

Für die Bestimmung des Gesamtcyanidgehalts wurden Proben jeweils aus der KCN-Lösung (10 mL), aus der Nährlösung (2 mL) sowie die NaOH-Lösungen aus den beiden Waschflaschen (jeweils 2 mL) herangezogen.

2.1.3.4 Bestimmung des pH-Wertes der Nährlösung

Das ermittelte pH-Optimum für die eingesetzte Mischkultur KS 7D ist im Bereich 7,5 bis 8,5 angegeben (Bryniok, 2004). Um Veränderungen des pH-Wertes erfassen zu können, war es notwendig den pH-Wert der Nährlösung in täglich zu überprüfen. Die Bestimmung des pH-Wertes der Nährlösung erfolgte im täglichen Probenahmevolumen von 3 mL mit Hilfe eines farbfixierten Indikatorstäbchens (Merck). Entnommen wurde die Probe über einen Ablasshahn in der Kreislaufrührung der Nährlösung.

2.1.3.5 Bestimmung der optischen Dichte und der Zelldichte

Um einen Eindruck von der Aktivität der Mikroorganismen im Biofilter zu gewinnen, erfolgte parallel zur täglichen Analytik die Bestimmung der optischen Dichte (OD) der Nährlösung. Zur Bestimmung wurde ein Spektralphotometer CADAS 100 (Dr. Lange, Berlin) verwendet. Gemessen wurde bei einer Wellenlänge von 546 nm gegen Di-Wasser in Einmal-Küvetten aus Polymethylmethacrylat (PMMA) (Schichtdicke 10 mm). Das Probenvolumen betrug 1 mL. Zur Bestimmung der Zellzahl wurde eine Thoma-Zählkammer (Tiefe 0,02 mm) verwendet.

2.2 Ergebnisse Laborrieselreaktor

Mit dem Laborrieselreaktor wurden jeweils ein Abbauersuch mit Schlingseil und dem Granulat durchgeführt. Die Abbauersuche wurden aufgrund des begrenzten Zeit –Rahmens nach 26 Tagen (Schlingseil) bzw. 30 Tagen (Granulat) beendet. Die Versuchsdauer der dazugehörigen Sterilversuche betrug 2 Wochen.

In keinem Versuch konnte in der nachgeschalteten NaOH-Lösung der zweiten Waschflasche Cyanid nachgewiesen werden. Die pH-Wert der Nährlösung lagen bei allen Abbauersuchen stets stabil bei 7,5. In den Abbildungen 9 und 10 sind die Massebilanzen der Abbauersuche der Varianten mit Schlingseil und Granulat dargestellt, sowie jeweils die optische Dichte der Nährlösung während der gesamten Versuchsdauer. Auf die Darstellung der NaOH- Lösung der Waschflasche zwei und des pH-Wertes wurde verzichtet.

Wie in den Abbildungen 9 und 10 deutlich wird, konnte bei den Abbauersuchen eine Abnahme der Masse an Cyanid im Vorlagebehälter trotz täglicher Zudosierung von 4 mg Cyanid über den Verlauf einer Versuchswoche beobachtet werden. Der starke Abfall zwischen dem ersten und zweiten Versuchstag bei beiden Abbauersuchen zeigt die Differenz zwischen Startwert und dem Wert des folgenden Tages, ab dem jeweils die die Zudosierung von 4 mg Cyanid erfolgte.

2.2.1 Versuchsvariante Schlingseil

Bei dem Abbauersuch mit Schlingseil wurde nach einer 3-tägigen Umlaufphase mit einem Startwert für die optische Dichte der Nährlösung von 0,35 die Begasung der Filterpatrone mit HCN gestartet. In der ersten Versuchswoche konnte ein starker Anstieg der optischen Dichte der Nährlösung bis auf 1,2 beobachtet werden. Ab der zweiten Versuchswoche verlangsamte sich die Zunahme der optischen Dichte der Nährlösung. Der höchste gemessene Wert wurde am 16. Versuchstag mit 1,54 bestimmt. Am 16. Versuchstag wurden 15 mL Nährlösung zum Ausgleich von Verlusten aufgefüllt. Der fehlende Wert am 19. Versuchstag beruht auf einem Verlust der Probe.

In den 26 Tagen der Versuchsdauer des Abbauersuchs mit Schlingseil als Aufwuchsträger konnten nur sehr geringe Massen an Cyanid in der Nährlösung nachgewiesen werden. Am 16. Versuchstag wurde der höchste Wert mit 0,5 mg ermittelt. Im dazugehörigen Sterilversuch betrug die höchste ermittelte Masse an Cyanid in der Nährlösung 2,2 mg. In den 26 Versuchtagen des Abbauersuchs mit Schlingseil als Aufwuchsträger wurden

77,0 mg Cyanid aus der KCN-Lösung ausgestrippt. Davon konnten bei Beendigung des Versuches nur 0,3 mg Cyanid in der NaOH-Lösung der ersten Waschflasche nachgewiesen werden.

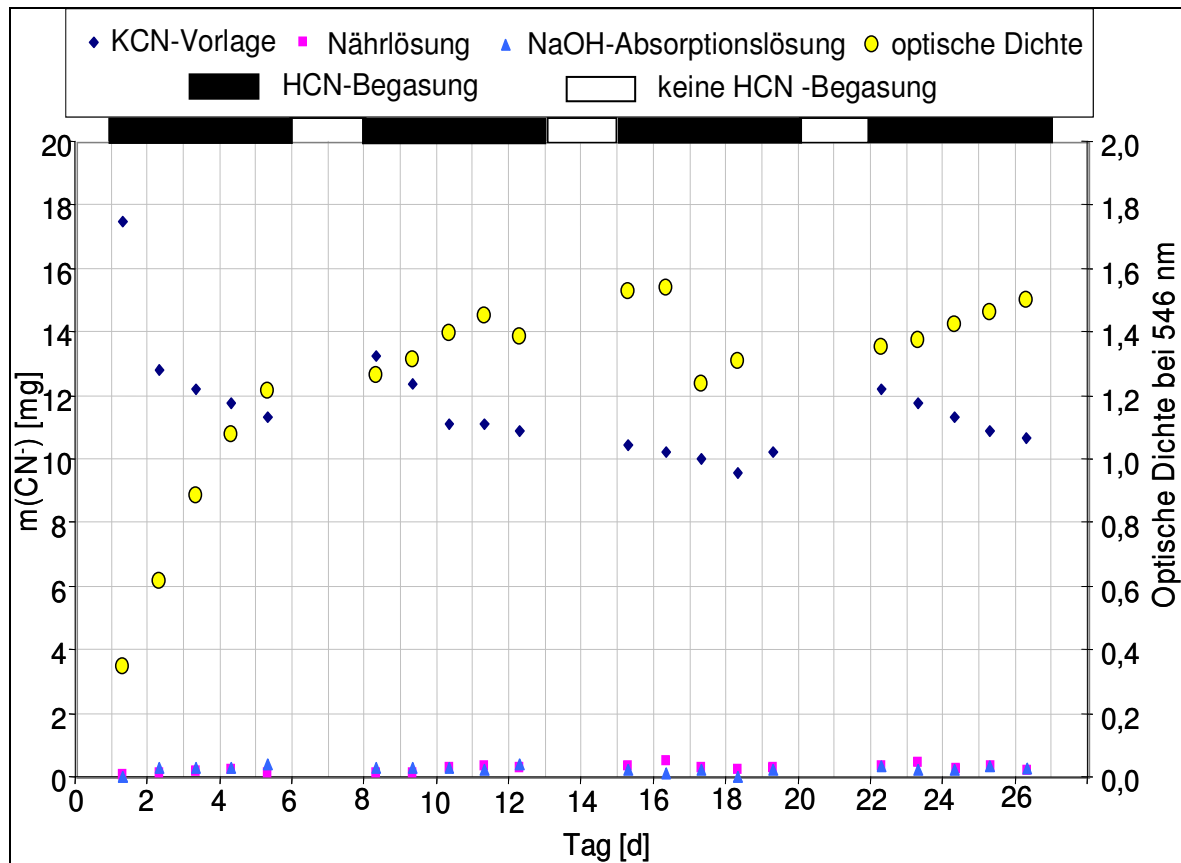


Abbildung 9: Massenbilanz an Cyanid im System für die Versuchsvariante mit Schlingseil und Verlauf der optischen Dichte der Nährlösung während einer Versuchsdauer von 26 Tagen

2.2.2 Versuchsvariante Granulat

Bei dem Abbauersuch mit Granulat konnte wie schon beim Abbauersuch mit Schlingseil festgestellt werden, dass täglich (außer am 4. Versuchstag) etwas mehr als die zudosierten 4 mg Cyanid aus der KCN-Lösung ausgestrippt wurden. Der Abbauersuch wurde nach einer 9-tägigen Anlaufphase gestartet. Die Eintrübung der Nährlösung nahm während Einlaufphase deutlich langsamer zu, als beim Abbauersuch mit Schlingseil. Die optische Dichte der Nährlösung bei Versuchsstart betrug 0,2. Nach dem Start der Begasung stieg die optische Dichte bis zu einem Maximum von 1,17 (21. Versuchstag). Danach nahm die optische Dichte wieder ab und stabilisierte sich bis zum Versuchsende um den Wert 1

herum. Eine Bestimmung der Zelldichte bei einer optischen Dichte von 0,98 ergab einen Wert von ca. $6 \cdot 10^9$ Zellen / mL.

Die höchste bestimmte Masse an Cyanid in der Nährlösung während der 30-tägigen Versuchsdauer betrug 0,5 mg (9. und 29. Versuchstag). Bei dem dazugehörigen zweiwöchigen Sterilversuch mit Granulat lag die höchste bestimmte Masse an Cyanid in der Nährlösung bei 2,3 mg. In den 30 Versuchstagen des Abbaubversuchs mit Granulat als Aufwuchsträger wurden insgesamt 84,1 mg Cyanid aus der KCN-Lösung ausgestrippt. Davon konnten bei Beendigung des Versuches 0,5 mg Cyanid in der NaOH-Lösung der ersten Waschflasche nachgewiesen werden.

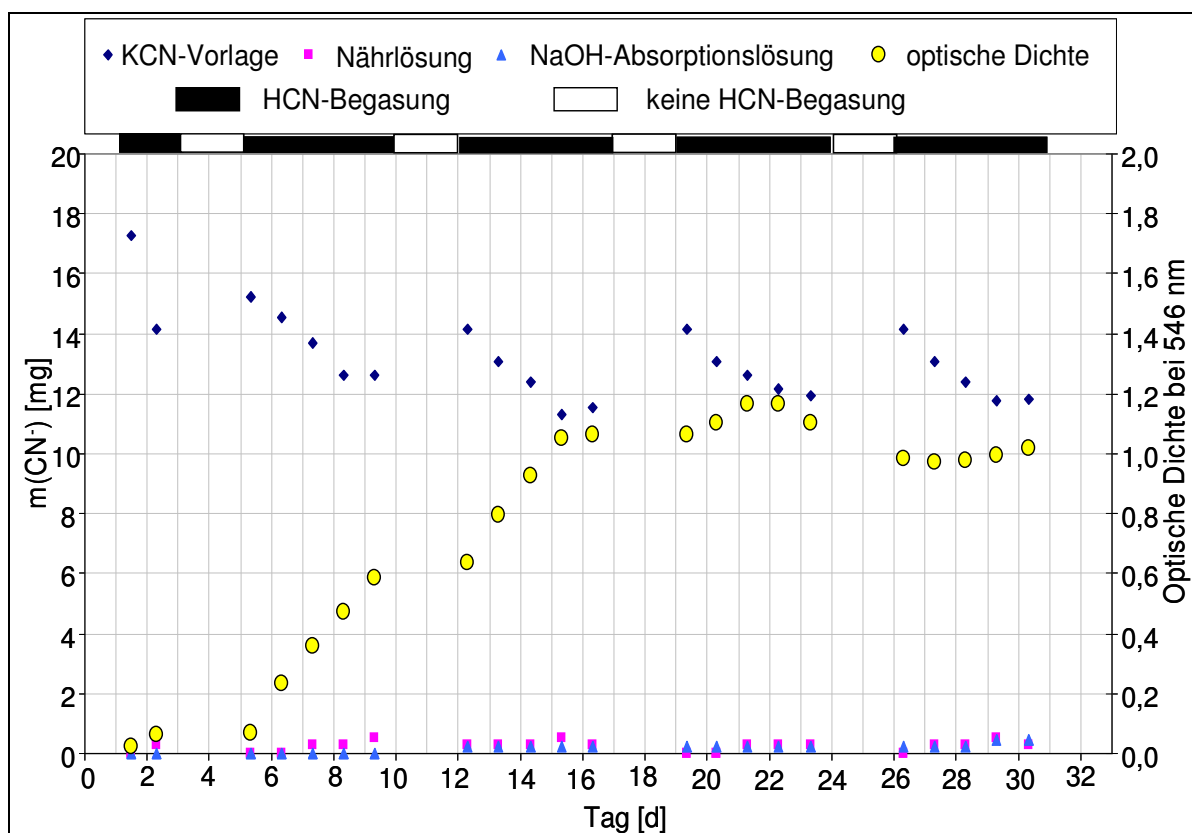


Abbildung 10: Massenbilanz von Cyanid im System für die Versuchsvariante mit Granulat und Verlauf der optischen Dichte der Nährlösung während einer Versuchsdauer von 30 Tagen

2.2.3 Vergleich der Massenbilanzen beider Versuchsvarianten

Im Sterilversuch mit Schlingseil konnten in zwei Wochen 79,7 % der ausgestrippten Masse an Cyanid in der Nährlösung und NaOH-Absorptionslösung nachgewiesen werden, im

Sterilversuch mit dem Granulat lag dieser Wert bei 80,8 %. Die Minderbefunde wurden bei den Sterilversuchen als Systemverluste definiert.

Im Abbauprobversuch mit Schlingseil wurden nach zwei Wochen 1,76 % des ausgestrippten Cyanids wiedergefunden. In dem Abbauprobversuch mit Granulat als Aufwuchsträger wurden nach zwei Wochen 1,74 % des ausgestrippten Cyanids in der Nährlösung und in der NaOH-Lösung nachgewiesen. Bei der Erstellung der Gesamtbilanz wurden zudem die Massen berücksichtigt, die mit den täglichen Probenahmen aus dem System entfernt wurden.

In Abbildung 11 sind die Anteile der Massenbilanzen für die Steril- und Abbauprobversuche beider Versuchsvarianten graphisch dargestellt.

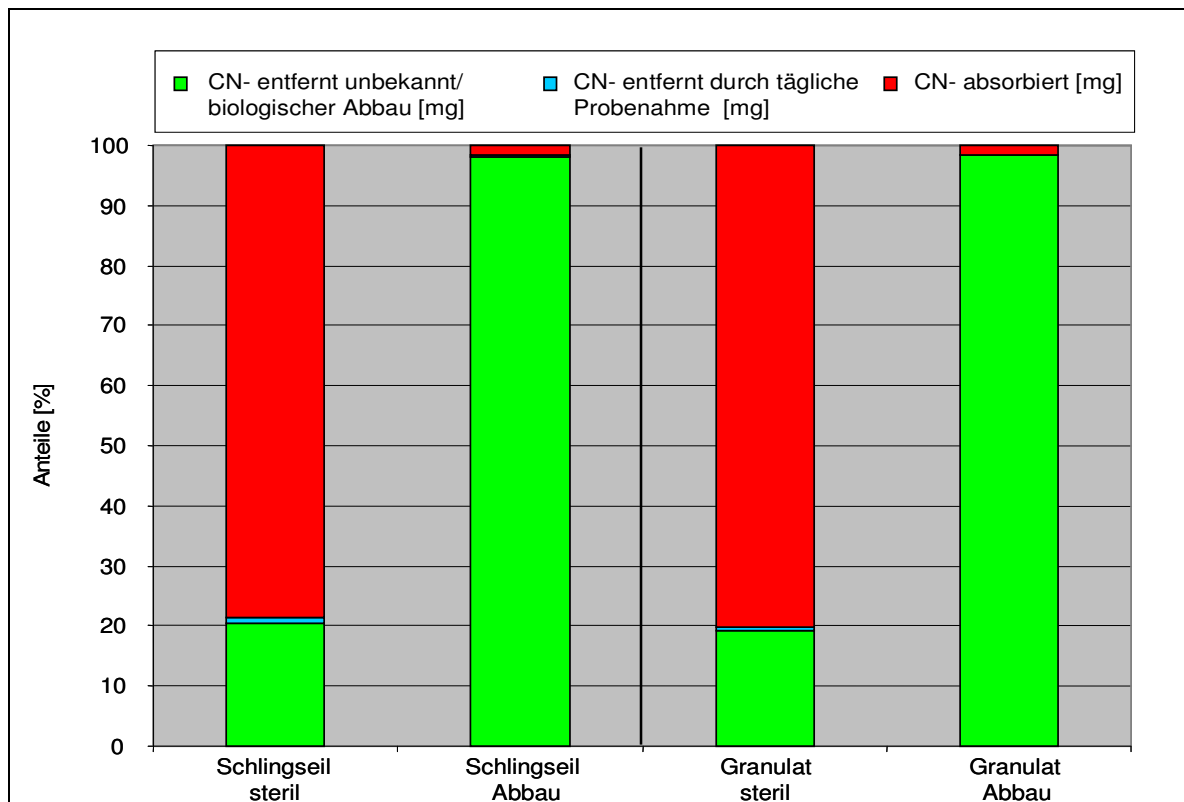


Abbildung 11: Anteile aus den Massenbilanzen für die Steril- und Abbauprobversuche beider Aufwuchsträgervarianten

Während eines 2-wöchigen Zeitraumes wurden bei dem Abbauprobversuch mit Schlingseil 38,1 mg Cyanid ausgestrippt, beim Abbauprobversuch mit dem Granulat betrug die ausgetriebene Masse an Cyanid während dieses Zeitraumes 31,7 mg.

Die ermittelten Systemverluste der Sterilversuche wurden bei der Berechnung des Abbaugrades jeweils von den entfernten Massen (unbekannt bzw. biologischer Abbau) der Abbauprobe nach einem 2-wöchigen Zeitraum abgezogen. In zwei Wochen wurden im Abbauprobe mit dem Schlingseil 29,6 mg biologisch abgebaut. Beim Versuch mit Granulat betrug dieser Wert 25 mg. Wie in Tabelle 3 zu erkennen, ist bei den Abbaugraden mit 77,9 % (Schlingseil) bzw. 79,0 % (Granulat) nur ein geringer Unterschied feststellbar.

Tabelle 3: Gesamtbilanzen und Abbaugrade (Steril- und Abbauprobe) der am STFI durchgeführten Versuche mit den Aufwuchsträgervarianten Schlingseil und Granulat

	Schlingseil		Granulat	
	Steril- versuch	Abbau- versuch	Steril- versuch	Abbau- versuch
m(CN⁻) ausgestrippt [mg]	31,58	38,06	31,66	31,67
m(CN⁻) nachgewiesen [mg] absorbiert	24,79	0,63	25,42	0,53
entfernt durch Probenahme	0,38	0,04	0,15	0,02
Summe	<u>25,17</u>	<u>0,67</u>	<u>25,57</u>	<u>0,55</u>
m(CN⁻) entfernt durch Systemverlust /biologischer Abbau [mg]	6,41	37,39	6,09	31,12
Anteile (CN⁻) nachgewiesen [%] absorbiert	78,50	1,66	80,29	1,68
entfernt durch Probenahme	1,20	0,10	0,47	0,06
Summe	<u>79,70</u>	<u>1,76</u>	<u>80,76</u>	<u>1,74</u>
Anteile (CN⁻) entfernt durch Systemverlust / biologischer Abbau [%]	20,30	98,24	19,24	98,26
Biologischer Abbau korrigiert um Systemverlust Sterilversuch [%], [mg]	<u>77,9 % = 29,6 mg</u>		<u>79,0 % = 25,0 mg</u>	

2.3 Diskussion

Die ermittelten Systemverluste in den Sterilversuchen mit 20,3 % (Schlingseil) und 19,2 % (Granulat) können unterschiedliche Ursachen haben. Zum Teil können Systemverluste durch Adsorptionsverluste an den Oberflächen des Systems (Glasgefäße, Verbindungsschläuche) und dem Aufwuchsträgermaterial entstehen. Da sich durch den Ausstrippvorgang ständig HCN in der Atmosphäre des Systems befand, konnte dieses bei der kurzzeitigen täglichen Systemöffnung zur Probenahme in undefinierbaren Mengen entweichen. Diese Mengen trugen vermutlich einen erheblichen Teil zu den bilanzierten undefinierbaren Systemverlusten bei den Sterilversuchen bei.

Da bei den Sterilversuchen nur geringe Unterschiede bezüglich der Systemverluste zwischen den beiden Aufwuchsträgervarianten festgestellt werden konnten, ist zu vermuten, dass die Unterschiede der Aufwuchsträger in Struktur, Zusammensetzung und Wasserspeicherkapazität die Größe der Systemverluste nicht beeinflussten.

Die Tatsache, dass im Gegensatz zu den Sterilversuchen bei den Abbauprobversuchen auch nach 4 Wochen kaum Cyanid in der Nährlösung nachgewiesen wurde, spricht für eine schnelle biologische Umsetzung des Cyanids.

Die Wirkungsgrade der Versuchsvarianten mit beiden getesteten Aufwuchsträgern lagen mit 77,9 % (Schlingseil) und 79,0 % (Granulat) etwa in derselben Größenordnung. Zu erwarten gewesen wäre ein deutlich höherer Abbaugrad des granulären Aufwuchsträgers, da aufgrund seiner Wasserspeicherkapazität und der im Vergleich zum Schlingseil vermuteten größeren zur Verfügung stehenden Aufwuchsfläche ein besserer Rückhalt der Biomasse zu erwarten war. Durch eine bessere Immobilisierbarkeit der Zellen können höhere Zelldichten als im suspendierten Zustand erreichbar werden (Ottow und Bidlingmaier, 1997), wodurch deutlich höhere Umsatzraten an Schadstoffen erzielt werden können (Martienssen, 2001).

Ein Hinweis für einen besseren Rückhalt der Biomasse durch das Granulat besteht darin, dass bei dem Abbauprobversuch mit Schlingseil ($OD=1,54$) eine höhere optische Dichte der Nährlösung erreicht wurde als beim Abbauprobversuch mit Granulat ($OD=1,17$). Zudem wurde eine Eintrübung der Nährlösung beim Abbauprobversuch mit Schlingseil bereits nach einer 3-tägigen Einlaufphase festgestellt, während beim Abbauprobversuch mit dem Granulat erst nach 9 Tagen Einlaufphase eine deutliche Zunahme der Trübung festgestellt werden konnte. Aufgrund der nahe beieinander liegenden Ergebnisse für die erreichten Abbaugrade der

Versuche ist unter den beschriebenen Versuchsbedingungen kein Einfluss der Aufwuchsträger auf das Verhalten des Versuchssystems bezüglich der Cyanwasserstoffelimination feststellbar.

Die unterschiedlichen Volumina an Nährlösung beider Versuchsvarianten scheinen ebenfalls keinen Einfluss auf das Eliminationsverhalten unter diesen Versuchsbedingungen zu haben. Durch Helmert (2008) wurde am STFI mit einem Laborrieselreaktor in Versuchen mit Einmal-Beladung bereits festgestellt, dass das Volumen der Nährlösung unter Laborbedingungen keinen bedeutenden Einfluss auf das biologische Eliminationsverhalten von Cyanid hatte.

Da beide Abbauprobversuche in den Abbaugraden nahe beieinander lagen und bei beiden Abbauprobversuchen während der Versuchsdauer nur ein sehr geringer Durchbruch von Cyanid in die NaOH-Lösung der ersten Waschflasche erfolgte, ist davon auszugehen, dass die Versuche unter der Leistungsgrenze des Systems erfolgten.

Im Vergleich zu den von Helmert (2008) am STFI durchgeführten Abbauprobversuchen mit Schlingseil konnte mit 77,9 % eine deutlich höhere Abbaurate erzielt werden. Die ermittelten Abbauraten mit Schlingseil als Aufwuchsträgermaterial bei Helmert betrugen zwischen 31 %, 37 % und 65 %. Der Unterschied ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die eingesetzten Ausgangsmassen an Cyanid (zwischen 125 und 259 mg) deutlich höher waren und deshalb die hohen Cyanidfrachten im Abgasstrom der ersten Versuchstage zu einem Durchbruch von Cyanid führte (Helmert, 2008). Des Weiteren führte vermutlich die konstantere Cyanidfracht im künstlich erzeugten Abgasstrom der hier beschriebenen Versuche zu besseren Abbauraten, da hier die Schwankungen bei der Substratversorgung, welche beim biologischen Abbau von Schadstoffen mit Spezialkulturen vermieden werden sollten (Ottow und Bidlingmaier, 1997), im Wochenverlauf im Vergleich zu Helmert (2008) geringer waren. Die Systemverluste der Sterilversuche bei Helmert (2008) lagen mit 6 -7 % deutlich niedriger als in den hier beschriebenen Versuchen. Dies liegt vermutlich daran, dass Minderbefunde durch Adsorptionsvorgänge und Gasverluste bei den hier eingesetzten deutlich geringeren Massen an Cyanid sich stärker auf die Bilanz auswirkten.

Jedoch konnten mit den Versuchen von Helmert (2008) aufgrund des höheren Cyaniddurchsatzes bis zu 90 mg Cyanid und damit ca. dreimal mehr als in den hier beschriebenen Versuchen in 9 Tagen biologisch abgebaut werden.

Deutlich höhere Abbauraten von Cyanid finden sich auch in einem Bericht von Kang und Kim (1993). Sie untersuchten das Wachstum und das Abbauverhalten einer Mischkultur von *Serratia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella* und *Pseudomonas* mit Cyanid als einziger Stickstoffquelle. Dabei wurde ein Flüssigmedium (pH=8,0) mit Glucose als Kohlenstoffquelle (1 g/L) verwendet. Um Ausstrippverluste auszugleichen, wurde mehrmals Cyanid in Form einer KCN-Lösung nachdosiert, wobei eine Konzentrationsspitze von 300 mg/L Cyanid erreicht wurde. Eine Konzentration an Cyanid von mehr als 100 mg/L wurde innerhalb von 8 Stunden auf eine nicht mehr detektierbare Konzentration abgebaut (Kang und Kim, 1993).

Die Ergebnisse von Helmert (2008) zeigen, dass mit dem Aufwuchsträger und der eingesetzten Mischkultur deutlich höhere Cyanidfrachten als im hier beschriebenen Abbauversuch biologisch abgebaut werden können. Daher sollten mit dem beschriebenen Versuchsaufbau weitere Abbauversuche mit diesen Trägermaterialien durchgeführt werden, bei denen die täglichen Cyanidfrachten deutlich erhöht werden, um so die Leistungsgrenze des Systems zu ermitteln und so mögliche Unterschiede im Eliminationsverhalten des Systems bei Einsatz der beiden Aufwuchsträger deutlicher voneinander abgrenzen zu können.

Bei gleichem Eliminationsverhalten können folgende Argumente, für bzw. gegen den Einsatz der jeweiligen Aufwuchsträgervarianten aufgeführt werden: Die fehlende Wasserspeicherkapazität des Schlingseiles bedingt eine Einsparung von Nährlösung bzw. Umlaufflüssigkeit, jedoch auch das Fehlen einer Pufferkapazität. Durch die weitmaschige Struktur des Schlingseils, bietet dieser Aufwuchsträger einen geringeren Strömungswiderstand, wodurch sich ein geringerer Energieaufwand bei der Führung des Abgasstromes ergibt.

Bei dem Granulat ergibt sich aufgrund der strukturbedingten geringeren Größe der Zwischenräume und der möglicherweise stärkeren Biomasserückhaltung die Gefahr der Verblockung. Weiterhin kann bei dem Schlingseil durch die Beständigkeit gegen chemische und biologische Zersetzung eine deutlich längere Standzeit erreicht werden, wohingegen der 70 %-ige Viskoseanteil durch biologische Zersetzbarkeit eine kurze Standzeit bedingt. Die aufgeführten Argumente bedingen im Falle eines gleichen Eliminationsverhaltens des Systems bei Einsatz beider Aufwuchsträgervarianten eine Empfehlung für den Einsatz des Schlingseiles als Aufwuchsträgermaterial in einem Biorieselbettreaktor.

3 Großanlagen

Im Jahr 2007 konnte im Rahmen des das BMWi – Forschungsprojekts (FKZ: IW061144) „Minderung von Cyanidemissionen bei der Flammkaschierung - Biologischer Abluftfilter zur Cyanid-Elimination in der Textil-Veredlungsindustrie“ über einen Versuchszeitraum von 32 Wochen erfolgreich eine Pilotanlage im Kubikmetermaßstab, die mit dem cyanwasserstoffabbauenden Mikroorganismus KS-7D beimpft worden war, unter Praxisbedingungen betrieben werden. Während des Versuchs lag die Cyanid-Konzentration auf der Reinluftseite unterhalb der Nachweisgrenze. Als Aufwuchsträger wurde ein granuläres Material auf Cellulosebasis eingesetzt (Mählmann und Sallat, 2008).

Aufgrund dieser Erkenntnisse, wurden im Jahr 2008 durch die Fa. UGN Umwelttechnik GmbH bei den Firmen CH. Müller (Netzschkau) und Vowalon (Treuen) zwei Großanlagen (Abbildung 12) errichtet. An ihnen sollte das Verfahren der biologischen Abluftreinigung cyanwasserstoffhaltiger Abluftströme unter realen Bedingungen langfristig auf seine Effizienz Prozessstabilität untersucht werden. Im Rahmen dieser Diplomarbeit, wurden über einen Zeitraum von 15 Wochen Messungen an Roh- und Reinluft sowie mikrobiologische und analytische Untersuchungen des Umlaufwassers vorgenommen, um Aussagen zur Prozessstabilität bzw. der Effizienz bei der Cyanidelimination treffen zu können. Zu Beginn der Untersuchungen liefen beide Anlagen seit ca. 5 Monaten im Probetrieb.



Abbildung 12: Großanlage zur Reinigung cyanidbelasteter Abluftströme bei der Firma CH. Müller

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Beschreibung der Anlagen

Mit beiden Anlagen konnten je nach Schaltzustand bis zu $15.500 \text{ m}^3/\text{h}$ Abluft behandelt werden. Bei der Firma CH. Müller war im Beobachtungszeitraum der maximal mögliche Volumenstrom von $15.500 \text{ m}^3/\text{h}$ eingestellt, während bei der Firma Vowalon ein Volumenstrom von $11.000 \text{ m}^3/\text{h}$ eingestellt war.

Beide Anlagen waren bis auf geringe Unterschiede baugleich und funktionierten nach dem gleichen Verfahrensprinzip. Sie unterschieden sich nur aufgrund baulicher Gegebenheiten vor Ort in der Zuführung der Rohluft bzw. Abführung der Reinluft. Das Verfahrensprinzip ist in Abbildung 13 schematisch dargestellt. Die Rohluft wurde über ein Rohr von unten in den ersten Behälter geleitet und durchströmte dabei ein Festbett aus einem Kunststoffaufwuchsträgermaterial. Über eine Rohrverbindung wurde die vorbehandelte Luft dann aus dem ersten Behälter von oben in einen zweiten Behälter durch ein Festbett geleitet, das ebenfalls aus Aufwuchsträgermaterial aus Kunststoff bestand. Die Festbetten beider Behälter wurden von oben mit Umlaufwasser berieselt. Im Prinzip handelte es sich um zwei hintereinander geschaltete Rieselbettreaktoren, bei denen die Abluft und das Umlaufwasser beim ersten Behälter im Gegenstrom und beim zweiten Behälter im Gleichstrom geführt wurden. In der Folge werden die Behälter nur noch als Gegenstromfilter und Gleichstromfilter bezeichnet. Die Regeneration der Umlaufflüssigkeit sollte bereits im Gegenstromfilter durch Mikroorganismen, die auf den Füllkörpern angesiedelt sein sollten, beginnen. Die Ansaugung zog den zu behandelnden Abluftstrom durch beide Filter hindurch und leitete die gereinigte Luft über einen Kamin in die Atmosphäre.

In der Summe betrug das Füllkörpervolumen für die Anlagen je ca. 18 m^3 . Damit betrug die theoretische Verweilzeit bzw. Kontaktzeit des Gases für (Quotient aus Füllkörpervolumen und Volumenstrom) für die Anlage der Firma Vowalon ca. 6 Sekunden und für die Anlage bei CH. Müller ca. 4 Sekunden.

Der Umlaufwasserkreislauf beider Filter war über eine Rücklaufleitung vom Gleichstromfilter zum Gegenstromfilter miteinander verbunden. Aus dem Sumpf des Gegenstromfilters wurde das Umlaufwasser durch eine Steuer- und Konditionierungseinheit geführt. Hier erfolgten unter anderem eine Regelung des Füllstandes, eine PH-Regelung sowie die Aufteilung des konditionierten Wassers zur Berieselung beider Filter. Die Regelung des pH-Wertes auf den Wert von 7,5 erfolgte mit Ameisensäure (25%). Als Kohlenstoffquelle für die angeimpfte

Mischkultur KS-7D wurden wöchentlich 3 kg Fruktose ins Umlaufwasser gegeben. Das Volumen des im Kreislauf geführten Umlaufwassers betrug in beiden Anlagen jeweils ca. 6 m³.

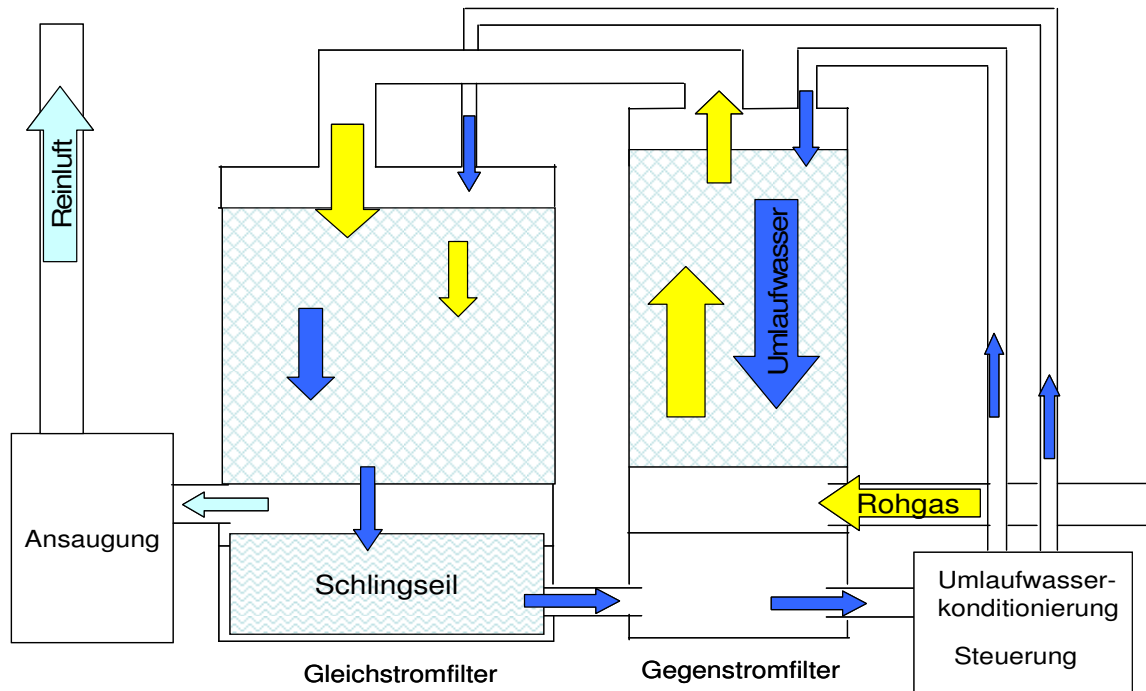


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Verfahrensprinzips beider Großanlagen

In beiden Anlagen wurden als Aufwuchsträger Pall®-Ringe (VFF GmbH & Co. KG) aus Polypropylen verwendet (Abbildung 14). Für den Gegenstromfilter wurden jeweils 6,3 m³ der Pall®-Ringe Größe 38 eingesetzt. In den Gleichstromfilter wurden jeweils 12 m³ Pall®-Ringe der Größen 25 und 50 eingebracht.

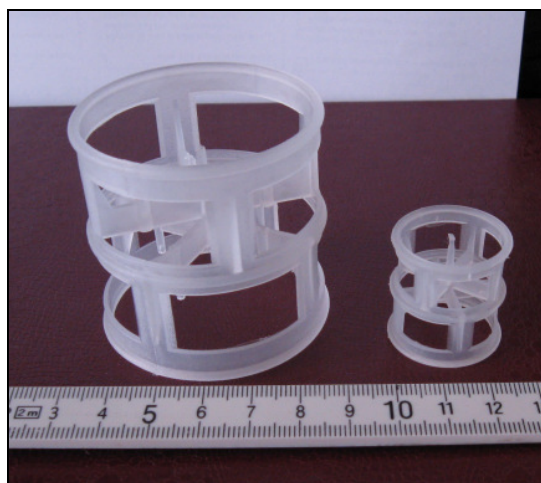


Abbildung 14: Pall®-Ringe der Größen 50 (links) und 25 (rechts)

Darüber hinaus wurden jeweils in den Reaktorsumpf (Abbildung 15, links) des Gleichstromfilters ca. 5 m³ Aufwuchsträgermaterial aus Schlingseil (Kapitel 2.1.1), welches in Säcken aus Polyethylenbändchenmaterial (Abbildung 15, rechts) zu Einheiten verpackt war, eingebracht.

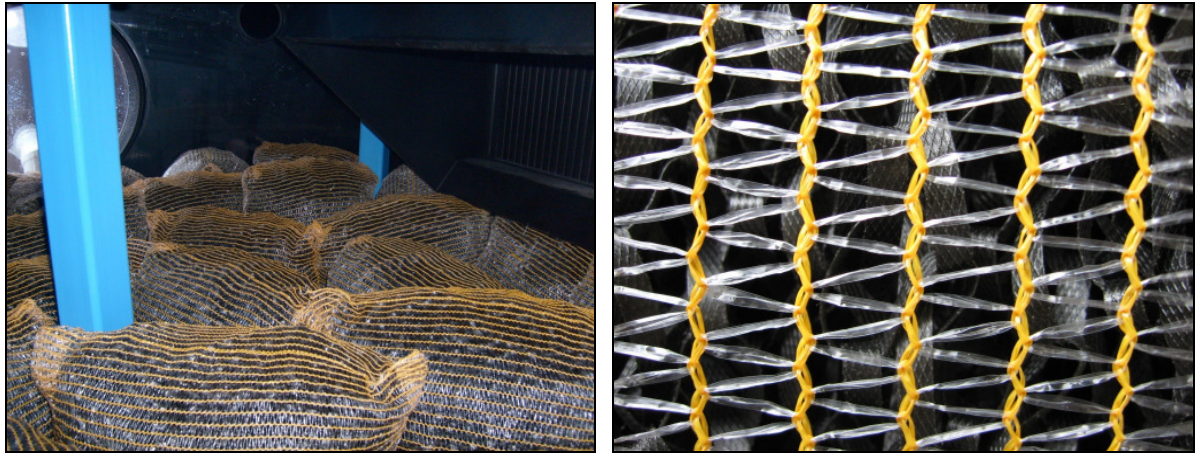


Abbildung 15: Polyethylensäcke gefüllt mit Schlingseil im Reaktorsumpf (links) und in Nahaufnahme (rechts)

3.1.2 Bestimmung der CN-Konzentration in Roh- und Reinluft

Zur Bestimmung der CN⁻-Konzentration in der Abluft wurden jeweils gleichzeitig aus dem Roh- und Reinluftstrom der Anlage ein definierter Volumenstrom (4 L/h) über einen zweistündigen Zeitraum durch zwei hintereinander geschaltete Waschflaschen mit Absorptionslösung (100 mL NaOH 1 M) geleitet. Die Bestimmung der in der Absorptionslösung enthaltenen Cyanidionen erfolgte nach DIN 38 405-D13-1-2. Die Erfassung des definierten Gasstromes erfolgte mit Hilfe der Konstantstrompumpen GS 450 (Desaga) und GS 312 (Desaga). Der Abscheidegrad wurde gemäß VDI 3478 (2008) nach der folgenden Formel bestimmt:

$$\eta(\%) = \frac{(c_{ROH} - c_{REIN}) * 100}{c_{ROH}}$$

wobei: c_{ROH} = Konzentration des Eintrittsgases [mg/m³]

c_{REIN} = Konzentration der Austrittsgases [mg/m³]

In Abbildung ist der Versuchsaufbau zur quantitativen Probenahme (volumenstrombezogen) des CN^- -Gehalts in der Abluft dargestellt.

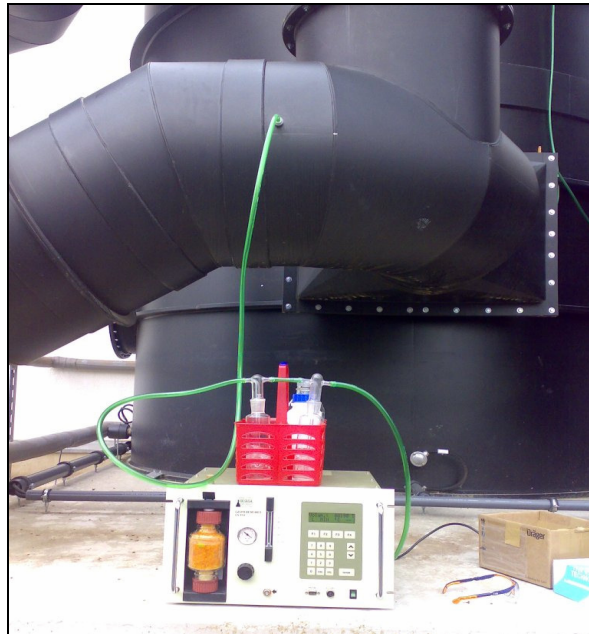


Abbildung 16: Quantitative Probenahme (volumenstrombezogen) des CN^- -Gehalts in der Abluft mit der Konstantstrompumpe GS 312 an der Reinluftabführung der Großanlage bei der Firma Vowalon

3.1.3 Quantitative Bestimmung des Gesamtcyanidgehaltes im Umlaufwasser

Die quantitative Bestimmung des Gesamtcyanids im stark getrübbten Umlaufwasser erfolgte in Anlehnung an DIN 38405 (Teil 13) durch Abtrennung und Ausstrippen des Cyanwasserstoffs und alkalische Bindung in NaOH-Lösung (1 M). Anschließend erfolgte die maßanalytische Bestimmung der Cyanid-Ionen nach DIN 38 405-D13-1-2.

Die Probenahme des Umlaufwassers erfolgte jeweils am Ablasshahn der Umlaufwasserkonditionierung der Anlagen. Zur Konservierung wurden die Proben mit NaOH-Lösung (1 M) auf einen pH-Wert von 12 eingestellt. Aus der konservierten Probe wurden 200 ml entnommen und in einen Zweihalsrundkolben mit einem darauf sitzenden Kühler gegeben. Danach wurde die Probe mit 2 ml Schwefelsäure (99 %) auf $\text{pH} < 2$ eingestellt und im Wasserbad auf 92°C erhitzt. Mit Hilfe einer Konstantstrompumpe GS 312 (Desaga) wurde ein Volumenstrom von 0,4 L/min (24 L/h) erzeugt. Das über einen Zeitraum von 60 Minuten ausgestrippte Gas wurde in zwei hintereinander geschaltete Waschflaschen mit jeweils 10 ml NaOH-Lösung (1M) geleitet, dort alkalisch gebunden und anschließend

analysiert. In Abbildung 17 ist der Versuchsaufbau für den Ausstrippvorgang mit anschließender alkalischer Bindung des Cyanids dargestellt.



Abbildung 17: Versuchsaufbau für den Ausstrippvorgang des Cyanwasserstoffs aus der Umlaufwasserprobe mit anschließender alkalischer Bindung des Cyanids in NaOH-Lösung

3.1.4 Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten cyanidverwertender Organismen im Umlaufwasser

Die Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten (KBE) cyanidverwertender Organismen im Umlaufwasser erfolgte mit Hilfe der Most-probable-number-Methode (MPN-Methode) nach Süßmuth et al. (1999). Als Medium diente ein selektives cyanidhaltiges (0,5 mM) Nährmedium für cyanidverwertende Organismen mit Fructose als C-Quelle (Rezept nach Bryniok, siehe Anhang A- 3).

Zur Erstellung der Verdünnungsreihen wurde je 1 mL der vorherigen Verdünnungsstufe in 9 mL Nährmedium überführt. Es wurden je drei Röhrchen bis zur Verdünnungsstufe 10^{-9} beimpft.

3.1.5 Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit der Inhaltsstoffe des Umlaufwassers

Um Hinweise zur biologischen Abbaubarkeit des Umlaufwassers zu erhalten, wurden in der 14. Untersuchungswoche ausgewählte Parameter des Umlaufwassers bestimmt (Tabelle 4).

Tabelle 4: Ausgewählte Parameter zur Charakterisierung der Umlaufwässer mit den angewendeten Bestimmungsmethoden

Parameter	Bestimmungsmethode
CSB (chemischer Sauerstoffbedarf)	Dr. Lange Küvettentest LCK 014
TOC (total organic carbon)	DIN EN 1484
BSB ₅ (biochemischer Sauerstoffbedarf, in 5 Tagen)	DIN EN 1899-2
NH ₄ ⁺ -N (Ammonium-Stickstoff)	Dr.Lange Küvettentest LCK 303
NO ₃ ⁻ -N (Nitrat-Stickstoff)	Dr.Lange Küvettentest LCK 339
N gesamt (Stickstoff gesamt)	Dr.Lange Küvettentest LCK 238
PO ₄ ³⁻ -P(Phosphat-Phosphor)	Dr.Lange Küvettentest LCK 348
P gesamt (Phosphor gesamt)	Dr.Lange Küvettentest LCK 348

Die Bestimmung der Werte für TOC und BSB₅ erfolgte durch die Südsachsen Wasser GmbH (Chemnitz) nach den angegebenen Bestimmungsverfahren (Tabelle 4). Für die Durchführung der Dr. Lange Küvettentests wurde ein Spektralphotometers vom Typ CADAS 100 der Firma Dr. Lange (Berlin) verwendet.

3.1.6 Temperatur und pH-Wert

Zur Abschätzung des pH-Wertes und des Temperaturverlaufs der Umlaufwässer in den Anlagen wurden die Daten der Anlagensteuerung an den Probenahmeterminen herangezogen.

3.1.7 Untersuchung der mikrobiellen Besiedlung der Aufwuchsträgeroberfläche

Aufgrund vergleichsweise geringer KBE-Zahlen cyanidverwertender Mikroorganismen in den Umlaufwasserproben beider Anlagen wurde untersucht, ob auf der Oberfläche des Aufwuchsträgers aus Schlingseil eine Besiedlung mit Mikroorganismen stattgefunden hatte.

Um die Besiedlung der Oberfläche des Schlingseiles mit Mikroorganismen beurteilen zu können, wurden am STFI mikroskopische Aufnahmen mit einem Rasterelektronenmikroskop XL 20 (P Philips; Eindhoven (NL)) angefertigt. Dazu wurde in der 14. Beobachtungswoche aus dem Sumpf des Gleichstromfilters der Anlagen jeweils ein Stück Schlingseil herausgeschnitten. Zur Vorbereitung für die Rasterelektronenmikroskopie wurden die Proben mit Glutaraldehydlösung chemisch fixiert, in Phosphatpuffer-Lösung gewaschen und in einer aufsteigenden Ethanolreihe (30-100%) entwässert. Nach der Lufttrocknung wurden die Proben jeweils auf einem Träger fixiert und mit Gold bedampft. Das detaillierte Vorgehen zur Probenvorbereitung ist in Helmert (2008) beschrieben.

Des Weiteren wurde je ein Stück Schlingseil in selektives cyanidhaltiges (1 mM) Nährmedium (siehe Anhang A- 3) überführt, um zu überprüfen, ob sich auf der Oberfläche des PP-Bändchenmaterials cyanidverwertende Mikroorganismen befanden.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 CN^- -Konzentration in Roh- und Reinluft

Die Werte beider Großanlagen für die CN^- -Konzentrationen, die über den 15-wöchigen Zeitraum aus den Parallelmessungen für Roh- und Reinluft ermittelt wurden, sind in den Abbildungen 18 und 19 dargestellt.

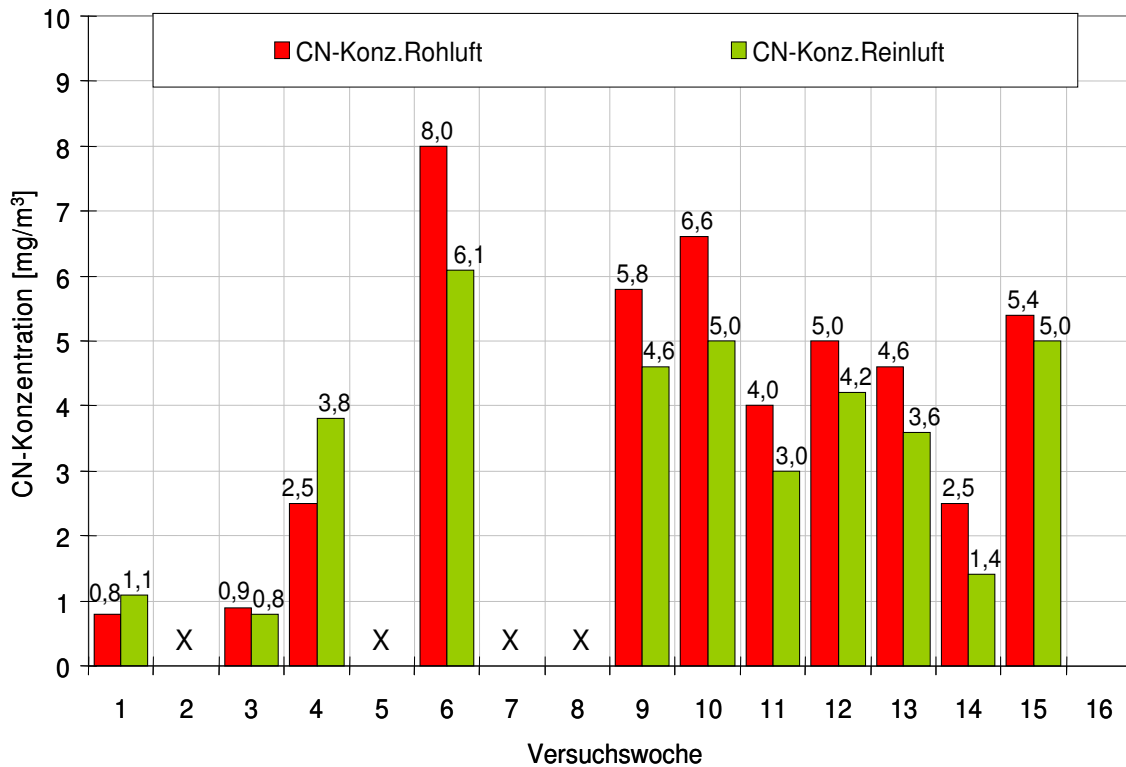


Abbildung 18: Darstellung der jeweils über einen zweistündigen Zeitraum ermittelten CN^- -Konzentrationen in Roh- und Reinluft Großanlage Vowalon (keine Messung (X))

Für die Anlage bei Vowalon wurden Abscheidegrade zwischen 11,1 % und 44,0 % ermittelt. Im Mittel lag der Abscheidegrad bei ca. 21 % (Standardabweichung 10,4 %, N=9). An zwei Terminen (1. und 4.) lag die CN^- -Konzentration in der Reinluft über der der Rohluft. Unter Berücksichtigung der negativen Abscheidegrade ergibt sich im Mittel ein Abscheidegrad von 9,0% (Standardabweichung 28,6 %, N=11). Die CN^- -Konzentration in der Reinluft mit Werten zwischen 0,8 mg/m³ und 6,1 mg/m³ lagen in 9 von 11 Fällen über dem Grenzwert von 3mg/m³ (entspricht 2,8 mg/m³ CN^-) für HCN nach TA-Luft.

Für die Anlage bei der Firma CH. Müller wurden Abscheidegrade zwischen 0,0 % und 26,7 % ermittelt. Im Mittel lag der Abscheidegrad bei ca. 16 % (Standardabweichung 8,6 %, N=9). An zwei Terminen (1. und 4.) lag die CN⁻-Konzentration in der Reinluft über der der Rohluft. Unter Berücksichtigung der negativen Abscheidegrade ergibt sich im Mittel ein Abscheidegrad von 8,7% (Standardabweichung 18,2 %, N=11). Die CN⁻-Konzentration in der Reinluft mit Werten zwischen 0,6 mg/m³ und 4,1 mg/m³ lagen in 2 von 11 Fällen über dem Grenzwert von 3 mg/m³ (entspricht 2,8 mg/m³ CN⁻) für HCN nach TA-Luft. Bei den Beprobungsterminen an denen die CN⁻-Konzentrationen auf der Reinluftseite unter dem Grenzwert für HCN nach TA-Luft lagen, lagen auch die CN⁻-Konzentrationen auf der Rohluftseite unter diesem Grenzwert.

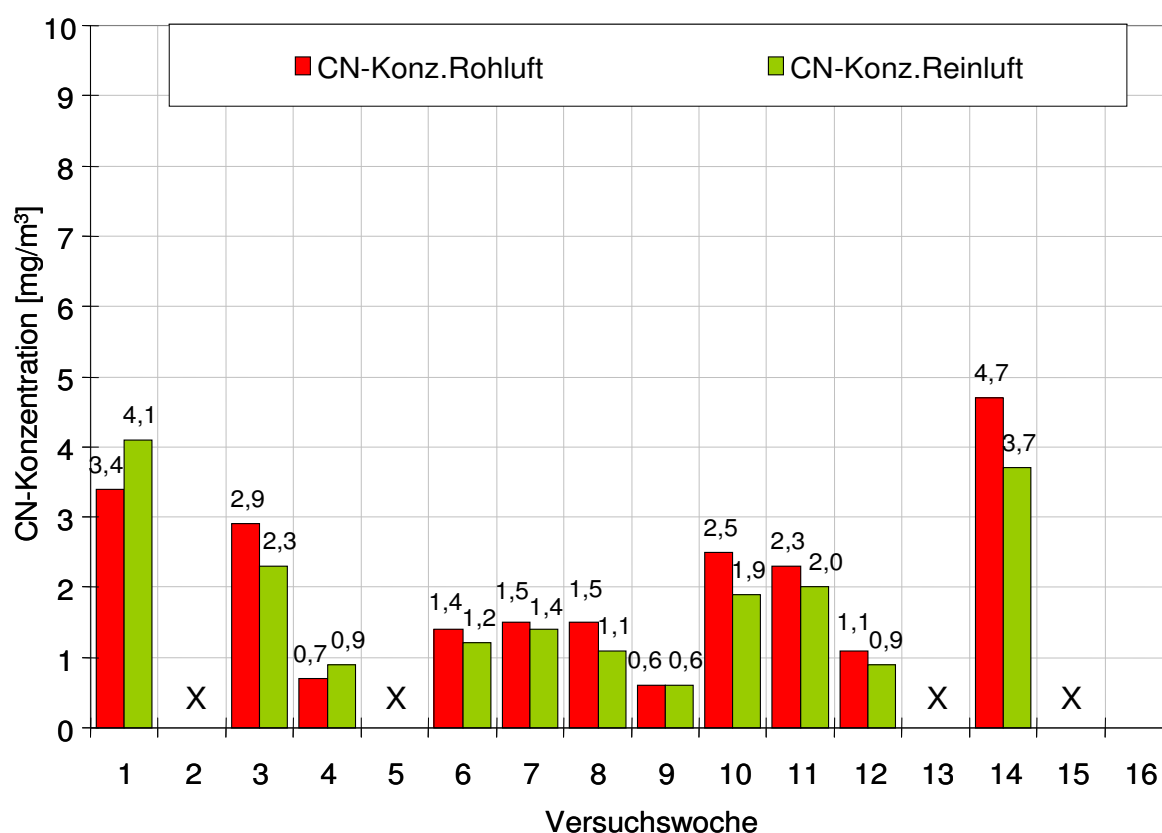


Abbildung 19: Darstellung der jeweils über einen zweistündigen Zeitraum ermittelten CN⁻-Konzentrationen in Roh- und Reinluft Großanlage CH. Müller (keine Messung (X))

Am ersten Versuchstag kam es bei der Messung der Reinluft bei der Firma CH. Müller zu Schwierigkeiten bei der Aufrechterhaltung eines konstanten Volumenstroms mit der Konstantstrompumpe des Gasprobennehmers GS 312. Diese Schwierigkeiten konnten bei den Messungen der Folgewochen in dieser Deutlichkeit nicht mehr beobachtet werden.

Bei beiden Anlagen wurden an den Beprobungsterminen überwiegend niedrigere CN^- -Konzentrationen in der Reinluft als in der Rohluft gemessen. Die CN^- -Konzentrationen der Reinluft beider Anlagen waren dabei nur geringfügig kleiner als die der Rohluft. Zweimal wurden bei beiden Anlagen höhere Werte in der Reinluft als in der Rohluft gemessen. Bei höheren CN^- -Konzentrationen in der Rohluft wurden jeweils auch höhere Konzentrationen in der Reinluft gemessen. Eine vollständige Elimination von Cyanid aus der Abluft konnte auch bei geringen CN^- -Konzentrationen in der Rohluft bei beiden Anlagen nicht beobachtet werden.

3.2.2 Konzentration Gesamtcyanid, pH-Wert und Temperatur

Für die Umlaufwässer beider Anlagen konnten im Versuchszeitraum starke Schwankungen in den Gesamtcyanid-Konzentrationen beobachtet werden. Bei Vowalon wurden mit der angewandten Methode Werte zwischen 6,8 mg/L und 29,6 mg/L ermittelt. Für die Proben von CH. Müller wurden Werte zwischen 5,2 mg/L und 21,3 mg/L ermittelt. In den Abbildungen 20 und 21 sind die ermittelten Daten für den pH-Wert und die Gesamtcyanidkonzentration in den Umlaufwasserproben graphisch dargestellt.

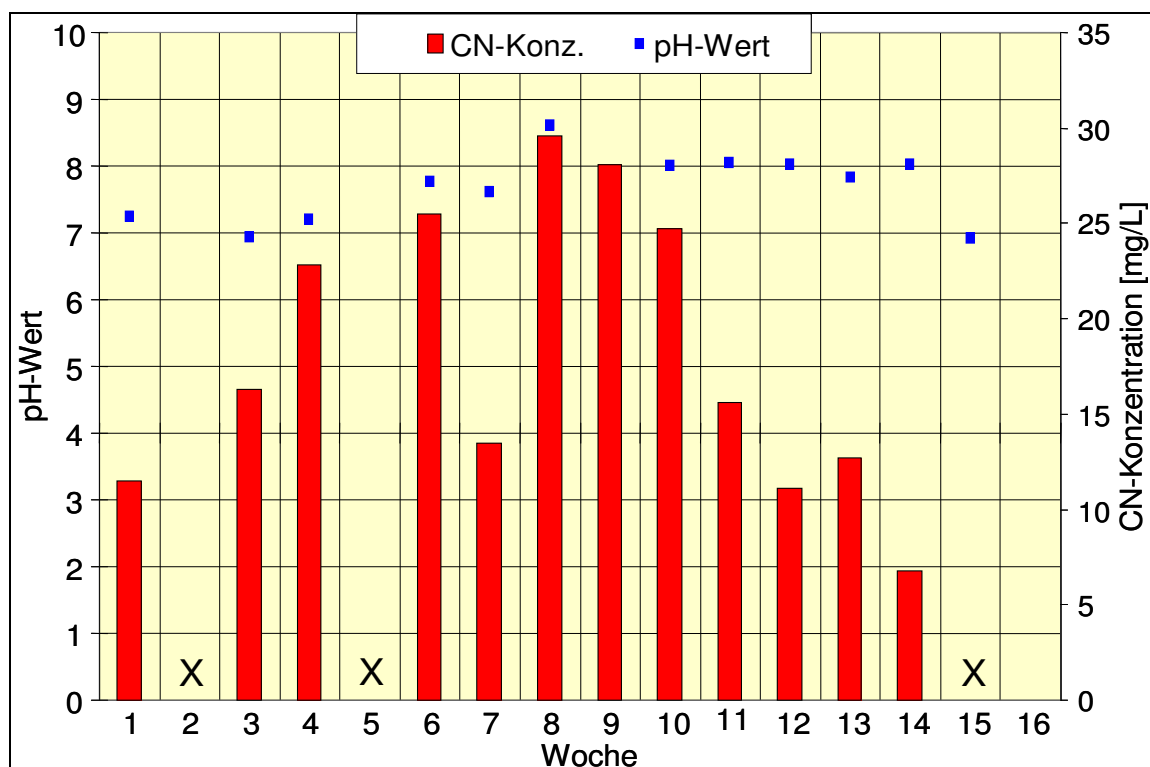


Abbildung 20: Darstellung der wöchentlich ermittelten pH-Werte und Konzentrationen an Gesamtcyanid im Umlaufwasser der Großanlage Vowalon (keine Messung (X))

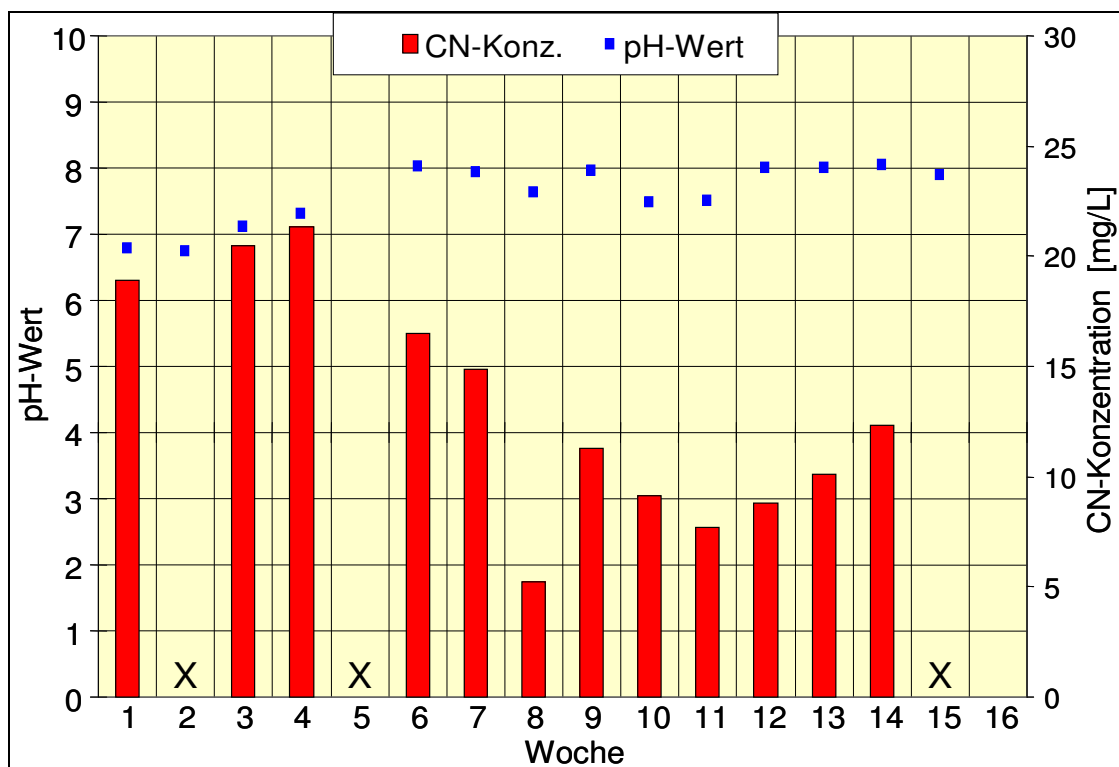


Abbildung 21: Darstellung der wöchentlich ermittelten pH-Werte und Konzentrationen an Gesamtcyanid im Umlaufwasser der Großanlage CH. Müller (keine Messung (X))

Die pH-Werte der Umlaufwässer beider Anlagen zeigten gemäß der aktiven Nachregelung durch die Anlagensteuerung während des Beobachtungszeitraumes ein stabiles Verhalten und bewegten sich überwiegend im Bereich zwischen 7 und 8.

Die Temperaturdaten des Umlaufwassers liegen für den Beobachtungszeitraum nur lückenhaft vor. Die vorliegenden Werte lagen im Bereich zwischen 20 und 25 °C.

3.2.3 KBE-cyanidverwertender Mikroorganismen im Umlaufwasser

Die KBE- Werte beider Umlaufwässer schwankten im Beobachtungszeitraum unterschiedlich stark. Bei Vowalon wurden Werte in Größenordnungen zwischen 10^4 und 10^7 ermittelt. Für das Umlaufwasser von CH. Müller schwankten die Werte in Größenordnungen zwischen 10^4 und 10^6 . Teilweise betrugen die Größenunterschiede im Abstand einer Woche bis zu 10^3 . In Abbildung 22 sind die ermittelten Werte der KBE cyanidverwertender Mikroorganismen im Umlaufwasser, die mit Hilfe der beschriebenen Methode ermittelt wurden für beide Anlagen nebeneinander graphisch dargestellt. Der Vertrauensbereich für diese Werte beträgt 95 %.

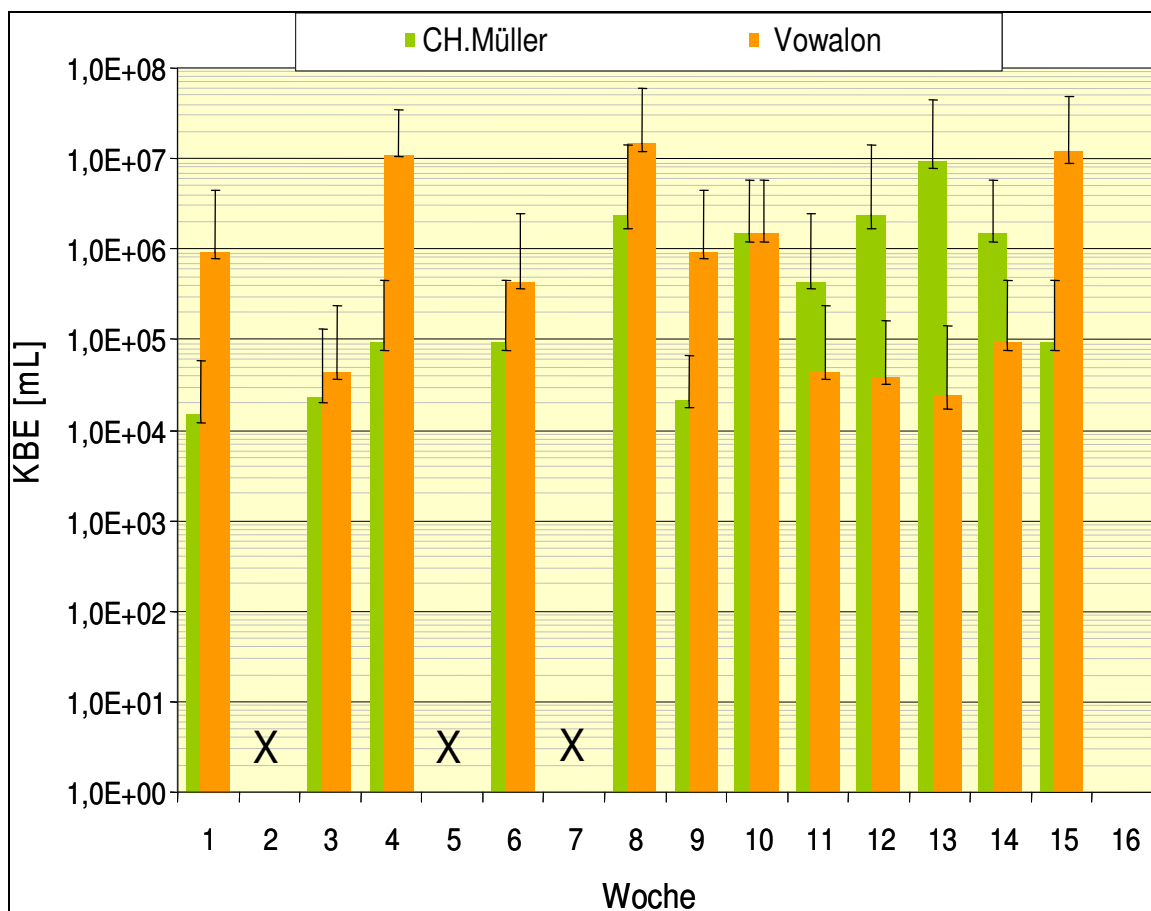


Abbildung 22: Ermittelte KBE-Werte (logarithmische Skaleneinteilung) pro mL cyanidverwertender Mikroorganismen, mit den dazugehörigen Fehlerbalken

Durch eine Korrelationsanalyse zwischen den KBE im Umlaufwasser und den Abscheidegraden der beiden Anlagen konnte für die beiden Anlagen zwischen KBE- Werten und Abscheidegraden kein Zusammenhang erkannt werden.

3.2.4 Parameter zur biologischen Abbaubarkeit

In Tabelle 5 sind die ermittelten Parameter beider Umlaufwässerproben der 14. Versuchswoche zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 5: Ermittelte Parameter zur biologischen Abbaubarkeit der Wasserinhaltsstoffe der Umlaufwasserproben

Parameter	Umlaufwasser	
	CH.Müller	Vowalon
CSB [mg/L]	13.704	9.226
TOC [mg/L]	5.050	3.190
BSB ₅ [mg/L]	1.350	1.200
NH ₄ ⁺ -N [mg/L]	7,9	34,6
NO ₃ ⁻ -N [mg/L]	16,40	17,20
gesamt N [mg/L]	2.150	1.560
PO ₄ ³⁻ -P [mg/L]	0,14	0,22
gesamt P [mg/L]	1,44	0,92

Auffällig bei beiden Proben war ein verhältnismäßig hoher Anteil an Gesamtstickstoff. Die ermittelten Konzentrationen für Nitrat und Ammonium lagen jeweils an diesem Tag in beiden Umlaufwässern über der Konzentration von Cyanid. Phosphat war in beiden Umlaufwasserproben im Verhältnis zum TOC und Gesamtstickstoff nur sehr wenig in den Umlaufwasserproben vorhanden.

Aus den Verhältnissen für die Molmassen der Werte für TOC, N-gesamt und P-gesamt ergibt sich für beide Wässer das Verhältnis von C:N:P (Tabelle 6). Der Quotient aus BSB₅ und CSB ist als der biochemische Abbaugrad α angegeben (Tabelle 6).

Tabelle 6: C:N:P-Verhältnisse und biochemische Abbaugrade der Umlaufwasserproben

Verhältnisse	CH.Müller	Vowalon
C [mol/L]	0,42	0,27
N [mol/L]	0,15	0,11
P [mol/L]	4,6E-05	3,0E-05
C:N:P (Ist-Wert)	9.130:3.260:1	9.000:3.666:1
C:N:P (Ideal-Wert)	106:16:1	106:16:1
α	0,099	0,130

3.2.5 Bewuchs der Aufwuchsträgeroberfläche

Bei Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen konnten bei Aufnahmen mit bis zu 8000-facher Vergrößerung bei beiden Aufwuchsträgerproben kein biologischer Bewuchs des PP-Bändchenmaterials festgestellt werden.

Nach fünf Tagen Inkubation der PP-Trägers in cyanidhaltigem Medium konnte bei beiden Ansätzen nur eine leichte Eintrübung des Mediums beobachtet werden. Auch nach 14-tägiger Inkubationszeit konnte bei beiden Proben auf der Trägeroberfläche kein milchiger Bakterienrasen festgestellt werden, wie er in vorangegangenen Immobilisierungsversuchen am STFI mit PP-Schlingseil beobachtet werden konnte.

3.3 Diskussion

Für beide Großanlagen wurden im Beobachtungszeitraum insgesamt unbefriedigende Abscheidegrade erreicht. Die Gründe dafür können vielseitig sein.

Durch die Probleme mit der Konstantstrompumpe bei der Reinluftmessung an der Anlage der Firma CH. Müller am ersten Versuchstag könnten Anteile höherer und niedrigerer belasteter Abluft das Waschlaschensystem in nicht vergleichbarer Menge zum Rohluftmesssystem passiert haben. Der Messwert kann daher stark fehlerbelastet sein.

Dass bei beiden Anlagen vereinzelt in der Reinluft höhere Cyanidkonzentrationen ermittelt wurden als in der Rohluft, deutet darauf hin, dass es hier zu Rücklösungserscheinungen und dem Ausgasen von Cyanwasserstoff aus dem Umlaufwasser gekommen ist. Dies kann vorkommen, wenn in der flüssigen Phase kein ausreichend schneller mikrobieller Abbau stattfindet, was wiederum bedeutet, dass nur eine rein physikalische Absorption des Schadstoffes bis zur Gleichgewichtseinstellung entsprechend dem Henryschen Gesetz stattfindet. Die Flüssigkeit wird somit nicht regeneriert und ist nach einiger Zeit gesättigt (Ottow und Bidlingmaier 1997). Diese Gleichgewichtseinstellung gemäß dem Henryschen Gesetz kann bei niedrigeren CN^- -Konzentrationen in der Abluft als im Umlaufwasser eine Ausgasung von HCN bedingt haben und damit zu Höherbefunden in der Reinluft gegenüber der Rohluft geführt haben.

Des Weiteren muss bemerkt werden, dass die CN^- -Konzentrationen der Roh- und Reinluftseite nur begrenzt miteinander vergleichbar sind. Durch die Probenahme aus dem Rohgasstrom werden neben dem Cyanwasserstoff möglicherweise ein hoher Anteil weiterer Cyanidspezies erfasst. Wenn diese in komplex gebundener Form vorliegen, werden sie durch die titrimetrische Bestimmung der Cyanidionen nicht erfasst. Durch den Wasserkontakt beim Durchlaufen der Anlage können sich möglicherweise in Wasser die CN-Gruppen der als Gesamt-Cyanid definierten Verbindungen ganz oder teilweise zu Cyanid-Ionen oder Cyanwasserstoff umsetzen (DEV, 1981). Dadurch könnte auf der Reinluftseite ein Höherbefund an Cyanidionen vorliegen.

Die ermittelten KBE- Zahlen beider Umlaufwässer lassen im Beobachtungszeitraum aufgrund starker Schwankungen keine Tendenzen erkennen. Die ermittelten Zahlenwerte können nur begrenzt einen Aufschluss über den Zustand der Biologie zum Untersuchungszeitpunkt in den Anlagen geben. Die Erfassung schloss alle Mikroorganismen

aus, die auf eine andere Kohlenstoffquelle als Cyanid und Fruktose angewiesen waren oder in Biofilmen auf den Aufwuchsträgern immobilisiert waren. Stark schwankenden KBE- Zahlen innerhalb einer Woche könnten darauf zurückzuführen sein, dass sich die Zusammensetzung der vorhandenen Mischpopulation aufgrund einer vorhandenen Eigendynamik als auch über von außen aufgeprägte Störungen in Form von Substrat-Konzentrationsänderungen ändert (Stephan, 2005). Schwankungen in den Zellzahlen könnten auch durch Konzentrationsunterschiede im Umlaufwasser zum Zeitpunkt der Probenahme zustande kommen sein, beispielsweise durch das Erfassen größerer abgelöster Zellaggregate. Bei beiden Anlagen ist ein direkter Zusammenhang von KBE-Zahlen cyanidverwertender Organismen und den ermittelten Abscheidegraden für den Untersuchungszeitraum nicht erkennbar, da bei beiden Anlagen annähernd gleiche KBE-Zahlen von teilweise stark unterschiedlichen Abscheidegraden begleitet wurden. Dies wird auch für beide Anlagen durch eine Korrelationsanalyse zwischen den KBE- Werten und den ermittelten Abscheidegraden bestätigt.

Die geringen Wirkungsgrade der Anlagen könnten weiterhin an einer ungünstigen Kontaktzeit des Gases in den Anlagen begründet sein. Die theoretischen Kontaktzeiten betrugen ca. 6 Sekunden (Vowalon) bzw. ca. 4 Sekunden (CH. Müller). Für gut lösliche Verbindungen sollte die Kontaktzeit nach VDI 3478 (2008) in der Anlage zwischen 5 und 20 Sekunden betragen. Die Werte lagen damit im unteren Bereich bzw. unter der empfohlenen Kontaktzeit.

Die während des Versuchszeitraumes beobachteten starken Schwankungen des Cyanidgehalts im Wasser, sind vermutlich auf die ebenfalls stark schwankenden CN^- -Konzentrationen des Rohgasstromes zurückzuführen. Die Beobachtungen lassen die Vermutung zu, dass die in den Anlagen vorhandene Biologie nicht in der Lage war, das Cyanid in der wässrigen Phase ausreichend schnell abzubauen. Ein Einfluss des pH-Wertes auf die CN^- -Konzentration im Umlaufwasser ist nicht erkennbar, da die pH-Werte der Umlaufwässer beider Anlagen während des Beobachtungszeitraumes durch die aktive Nachregelung der Anlagensteuerung ein stabiles Verhalten zeigten und sich überwiegend im Bereich zwischen 7 und 8 bewegten. Aufgrund dieser stabilen pH-Werte in diesem Bereich ist ein Einfluss des pH-Wertes auf die Aktivität der Mikroorganismen unwahrscheinlich, da der biologische Cyanidabbau überwiegend im neutralen Bereich stattfindet (Ebbs et al., 2006).

Die Aussage der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen, auf denen kein mikrobieller Bewuchs der Aufwuchsträgeroberfläche festgestellt werden konnte, werden durch die schwache Eintrübung des Medium, in dem sich die PP-Schlingseilproben befanden, bekräftigt. Die Aufwuchsträger aus Schlingseil wurden innerhalb der Anlage zwar nicht vom Abluftstrom durchströmt da sie sich im Reaktorsumpf der Gleichstromfilter befanden, das Schlingseil wurde jedoch mit nährstoffhaltiger Bakteriensuspension berieselt, sodass ein Austrocknen bzw. eine Minderversorgung im Vergleich zu den Trägermaterialien in den anderen Anlagenbereichen nicht gegeben war und damit eine Biofilmbildung hätte stattfinden müssen. Ein ähnlich schlechter Bewuchs der Pall®-Ringe aus PP-Material könnte ebenfalls eine Erklärung für das mangelhafte Abbauverhalten der Anlagen sein. Dieser Sachverhalt konnte im Versuchszeitraum jedoch nicht untersucht werden.

Die vorliegenden lückenhaften Temperaturdaten lagen in einem nach VDI 3478 (2008) empfohlenen Temperaturbereich, welcher den Normaltemperaturbereich mit Werten im zwischen 15 und 40 °C angibt. Stärkere Temperaturschwankungen, beispielsweise durch ein Absinken der Temperaturen in der Nacht, die einen Einfluss auf die Biologie gehabt haben könnten, wurden hier nicht erfasst. Ein Einfluss sehr niedriger Nachttemperaturen ist jedoch für den hier betrachteten Zeitraum (Ende April bis Ende Juli) unwahrscheinlich.

Der hier ermittelten Werte für die Verhältnisse von C:N:P betragen für CH. Müller 9.130 : 3.260 : 1 und für Vowalon 9.000 : 3.666 : 1. Das ideale C-N-P-Verhältnis bei der biologischen Abluftreinigung beträgt zwischen 100 : 5 : 1 bis 100 : 10 : 1 (VDI 3478, 2008). Da Phosphor in beiden Wässern in sehr geringen Mengen vorhanden war, kann dies zu einer Wachstumshemmung der Organismen geführt haben und den Aufbau von Biomasse behindern haben (Röske und Uhlmann 2005). Ebenfalls ungünstig war in beiden Anlagen das C:N-Verhältnis im Umlaufwasser, da der Stickstoff verhältnismäßig viel vorhanden war. Die Werte für die bestimmten biochemischen Abbaugrade α beider Umlaufwässer weisen auf einen hohen Anteil biologisch nicht bzw. schlecht abbaubarer Stoffe hin, da die Werte jeweils weiter gegen 0 als gegen 1 tendieren (Bank, 2000).

Die ermittelten Konzentrationen von Nitrat und Ammonium können ein Grund für die geringen Abscheidegrade der Anlage gewesen sein. Da die meisten zur Cyanidverwertung befähigten Organismen Cyanide umwandeln um den Stickstoff zu verwerten, kann sich die Anwesenheit weiterer Stickstoffquellen störend auf den mikrobiellen Cyanidabbau ausgewirkt haben (Wong – Chong und VanBriesen, 2006). Ein verminderter HCN - Abbau bei Vorliegen

von Ammonium auf Grund der einfacheren Verwertbarkeit wurde bei der zum Cyanidabbau befähigten Mischkultur KS-7D beobachtet (Mählmann und Sallat, 2008).

Des Weiteren können weitere undefinierte Substanzen, wie sie bei der thermischen Zersetzung von Kunststoffen vorkommen (Pfeifer, 1995) eine hemmende Wirkung auf den Cyanidabbau ausgeübt haben. Negative Einflüsse durch weitere individuelle physikalische Faktoren, wie beispielsweise Stofftransport oder mechanische Einflüsse, sind anhand der vorliegenden Daten nicht abschätzbar.

Da die Abscheidegrade der Anlage nach 8 Monaten im Probetrieb noch gering waren, konnte noch nicht von einer ausreichend hohen Effizienz bei der Reinigung cyanidhaltiger Abluftströme gesprochen werden. Daher war zu diesem Zeitpunkt damit zu rechnen, dass bei höheren CN^- -Konzentrationen die Grenzwerte für HCN nach TA-Luft weiterhin überschritten werden.

4 Untersuchungen zur Biozönose im Umlaufwasser zweier Großanlagen

Das Ziel der Untersuchungen bestand darin, einen Eindruck von der Zusammensetzung der mikrobiellen Biozönose im Umlaufwasser zweier großtechnischer Anlagen zur biologischen Reinigung cyanidhaltiger Abluftströme zu erlangen. Mit dem unter Punkt 3.1.4 beschriebenen MPN Verfahren wurde bereits das Vorhandensein cyanidverwertender Mikroorganismen nachgewiesen. Es ergab sich die Fragestellung, ob sich im Umlaufwasser vorhandene cyanidverwertende bzw. cyanidtolerante Mikroorganismen differenzieren lassen und damit eventuell ein Nachweis mehrerer verschiedener Mikroorganismen im Umlaufwasser möglich ist.

Weitere Fragestellungen, die sich aus diesen Untersuchungen ergaben, waren, ob ein Animpfen mit der Kultur KS-7D notwendig gewesen wäre und was bei möglichen Havarien der Anlage, wie zum Beispiel einer Zerstörung einer Reaktorbiozönose durch chemische oder physikalische Einflüsse, geschieht. Zum Zeitpunkt der Probenahme lag die Beimpfung beider Anlagen mit der Mischkultur KS-7D als Starterkultur ca. 3 Monate zurück.

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Kultivierung von Mikroorganismen aus dem Umlaufwasser - Gewinnung von Reinkulturen

Durch Ausstriche von Umlaufwasser auf Trypton-Soja-Agar (TS-Agar), einem Komplexmedium, konnten neben cyanidverwertenden gleichzeitig cyanidtolerante Mikroorganismen aus den Umlaufwässern der Anlagen kultiviert werden. In einem Vorversuch konnte gezeigt werden, dass die cyanidabbauende Mischkultur KS-7D auf diesem Nähragar in 48 Stunden Inkubationszeit kultiviert werden kann. In den Umlaufwasserproben wurde bei vorangegangenen Analysen ein Gesamtcyanidgehalt zwischen 10 und 20 mg/L ermittelt. Daher wurde der TS Agar mit 0,25 mM (6,5 mg/L) bzw. 1 mM Cyanid (26 mg/L) versetzt. Das Cyanid wurde dem flüssigen Agar vor dem Gießen der Platten in Form einer 0,1 M Kaliumcyanidlösung (KCN) zugesetzt. Nach dem Ausstrich wurden die Agarplatten bei Raumtemperatur (25- 28 °C) ca. 48 Stunden lang inkubiert.

Um Reinkulturen zu erhalten, wurden die einzelnen voneinander unterscheidbaren Kolonien entnommen, in 1ml NaCl-Lösung (0,9 %, steril) suspendiert und erneut auf TS-Agar mit der Impföse ausgestrichen. Im Anschluss an die Inkubation (48 Stunden) wurden die Kolonien der gewonnenen Reinkulturen bei 40-facher Vergrößerung (Stereomikroskop MTC 1630) nach morphologischen Unterschieden und Färbungen differenziert.

Die Gestalt und die Beweglichkeit der Mikroorganismen wurde mit einem Fluoreszenzmikroskop (Axiovert 200 M, Kamera DS-Fi 1) untersucht (Foto 1000-fach mit Öl).

4.1.2 Vergleich mit der Labormischkultur KS-7D

Um die in den Umlaufwässern enthaltenen Organismen zusätzlich mit der Labormischkultur KS-7D vergleichen zu können, wurde die Mischkultur in zwei Reinkulturen aufgetrennt. Bei dem Ansatz handelte es sich nicht um den Kulturansatz, mit dem die in Kapitel 2.1 beschriebenen Abbauprobversuche durchgeführt wurden, sondern um einen Parallelansatz der seit der Inkulturnahme am STFI alle 4 Wochen in frisches cyanidhaltiges (1 mM) Nährmedium (siehe Anhang A-3) mit Phenol als Kohlenstoffquelle überführt wurde. Diese beiden Reinkulturen wurden allen nachfolgend aufgeführten Untersuchungen unterzogen, wie die isolierten Mikroorganismenspezies aus den Umlaufwässern.

4.1.3 Selektives Festmedium mit ausgewählten Kohlenstoffquellen

Um aus den auf dem TS-Agar gewachsenen cyanidtoleranten Mikroorganismen mögliche cyanidverwertende Mikroorganismen zu selektieren, wurden die verschiedenen Mikroorganismenspezies auf einem Selektivmedium mit Cyanid (0,5 mM) als einziger N-Quelle ausgestrichen. Gleichzeitig sollten mögliche cyanidverwertende Mikroorganismen auf die Verwertung von 4 unterschiedlichen Kohlenstoffquellen untersucht werden. Als Kohlenstoffquellen wurden neben Fructose, α -D-Glucose, Glycerin und D-Mannose ausgewählt und im Stickstoff-Kohlenstoff-Verhältnis von 1:12 bei der Herstellung des Mediums zugesetzt (siehe Anhang A-4).

Die Auswahl dieser Kohlenstoffquellen erfolgte vor dem Hintergrund, dass die Starterkultur KS-7D außer Fructose keines dieser Substrate für das Wachstum verwerten kann (DSMZ, Bryniok, 2004). So sollte ein mögliches Unterscheidungskriterium zwischen der eingesetzten Starterkultur und weiteren kultivierbaren Cyanidverwertern geschaffen werden.

Weiterhin wurden alle Mikroorganismenkulturen auf Selektiv-Agar ausgestrichen, der keine zusätzliche Kohlenstoffquelle enthielt. Dies sollte eine mögliche Befähigung der Mikroben nachweisen, Cyanid als alleinige Stickstoff- und Kohlenstoffquelle für den Baustoffwechsel zu nutzen, ohne auf eine zusätzliche Kohlenstoffquelle angewiesen zu sein. Die Platten wurden bei Raumtemperatur 3 Tage lang inkubiert und anschließend ausgewertet.

4.1.4 Selektives Flüssig-Mineralsalzmedium mit ausgewählten Kohlenstoffquellen

Da auch die Möglichkeit einer Verwertung von Agarbestandteilen als Kohlenstoffquelle nicht vollständig ausgeschlossen konnte, wurden die verschiedenen Mikroorganismenspezies zusätzlich in flüssige Kulturmedien (Zusammensetzung siehe Anhang A-3) mit den oben genannten Kohlenstoffquellen überführt und bei Raumtemperatur (ca. 25°C) auf dem Magnetrührer inkubiert. Das Wachstum wurde anhand der Eintrübung beurteilt. Außerdem wurde bei einer Wellenlänge von 546 nm die optische Dichte (gegen deionisiertes Wasser) des Versuchsmediums zu Beginn und am Ende des Versuchs gemessen. Zudem wurde durch mikroskopische Betrachtungen im Phasenkontrast (1000-fach, Öl) sichergestellt, ob die beobachteten Eintrübungen auf eine Vermehrung von Mikroorganismen oder auf Ausfällprodukte mineralischer Nährsalze zurückzuführen waren.

4.1.5 Modifizierung der Kulturmedien

Die bisher zur Kultivierung von KS-7D eingesetzten Nährmedien enthielten in geringer Konzentration Eisen(III)-Citrat (10 mg/L). Um eine Verwertung von Citrat als Kohlenstoffquelle durch die Mikroorganismen vollständig auszuschließen, wurde das Eisen(III)-Citrat im Rezept (nach Bryniok, siehe Anhang A-3) gegen Eisen (III)-Chlorid ausgetauscht. Da Eisen(III)-Chlorid in wässrigen Lösungen durch Hydrolyse stark sauer reagiert, wurde die Lösung vor der Zugabe gepuffert (siehe Anhang A-2).

4.1.6 Bestimmung des Gram-Verhaltens, Katalase - Nachweis und Oxidasetest

Zur Bestimmung des Gram-Verhaltens wurden ein Kaliumhydroxid-Test (KOH-Test) und ein L-Alanyl - Aminopeptidase-Test (LAAP-Test) mittels Bactident® Aminopeptidase-Teststreifen (Merck) durchgeführt. Der Nachweis von Katalase erfolgte mittels H₂O₂-Lösung (3 %). Für den Oxidasetest wurden Bactident® Oxidase-Teststreifen (Merck) verwendet. Die Beschreibung der Durchführung der hier aufgeführten Tests ist im Anhang unter Punkt A- 5 aufgeführt.

4.1.7 Weitere stoffwechselphysiologische Differenzierung mittels standardisierter Testsysteme

Eine weitere Differenzierung der kultivierten Bakterien nach stoffwechselphysiologischen Reaktionen wurde mit Hilfe der standardisierten Testsysteme BD BBL Oxi / Ferm Tube II (für oxidasepositive Bakterien) oder BD BBL Enterotube II (für oxidasenegative Bakterien) durchgeführt. Eine Bakterienidentifizierung mittels der hier eingesetzten Testsysteme war nicht möglich, da beide Testsysteme für klinisch relevante Bakterien bestimmt sind.

Die Anwendung dieser Testsysteme erfolgte, weil damit in einem Arbeitsgang mit jeweils 12 verschiedenen Medien bis zu 14 bzw. 15 stoffwechselphysiologische Reaktionen zur Differenzierung der Kulturen durchgeführt werden konnten. Auf die Durchführung des Voges-Proskauer-Tests wurde verzichtet. Die Inkubation der inokulierten Testsysteme erfolgte bei 27°C. In der folgenden Tabelle sind die stoffwechselphysiologischen Reaktionen der Testsysteme zusammenfassend aufgeführt.

Tabelle 7: Biochemische Reaktionen der standardisierten Testsysteme Oxi / Ferm Tube II und Enterotube II

Biochemische Reaktionen		
Kammer	Oxi/Ferm Tube II	Enterotube II
1	Glucose-Fermentation (ANA-GLU)	Glucose-Fermentation (GLU)
		Gasproduktion (GAS)
2	Nachweis der Argininhydrolase (ARG)	Nachweis Lysin- Decarboxylase (LYS)
3	Nachweis Lysin-Decarboxylase (LYS)	Nachweis Ornithin- Decarboxylase (ORN)
4	Fermentation von Lactose (LAC)	H ₂ S-Bildung (H ₂ S)
	Bildung von N ₂ -Gas (N ₂)	Bildung von Indol (IND)
5	Oxidation von Saccharose (SUC)	Fermentation von Adonit (ADON)
	Bildung von Indol (IND)	Fermentation von Lactose (LAC)
6	Oxidation von Xylose (XYL)	Fermentation von Arabinose (ARAB)
7	Oxidation Glucose (AER-GLUC)	Fermentation von Sorbit (SORB)
8	Oxidation Maltose (MAL)	Voges Proskauer (VP)
9	Oxidation Mannit (MAN)	Fermentation von Dulcit (DUL)
10	Abbau von Phenylalanin zu Phenylbrenztraubensäure (PA)	Abbau von Phenylalanin zu Phenylbrenztraubensäure (PA)
11	Nachweis Urease-Hydrolyse von Harnstoff zu Ammoniak (UREA)	Nachweis Urease-Hydrolyse von Harnstoff zu Ammoniak (UREA)
12	Citratverwertung (CIT)	Citratverwertung (CIT)

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Mikroorganismenkultivierung

aus den Umlaufwässern der beiden Großanlagen konnten jeweils 4 morphologisch voneinander unterscheidbare Bakterienkolonien auf cyanidhaltigem TS-Agar kultiviert werden. Die unterschiedlichen Kolonien wurden gleichermaßen sowohl auf den Platten mit 26 mg/L, als auch auf den Platten 6,5 mg/L festgestellt. Demnach erhielten die Kolonien folgende Bezeichnung (Abbildung 23 und 24):

C.H.Müller

1. Kolonie: milchig-trüb Kolonie CH.MT
2. Kolonie: gelblich abfärbend CH.GA
3. Kolonie: matt-weiß Kolonie CH.MW
4. Kolonie: matt-gelb Kolonie CH.MG

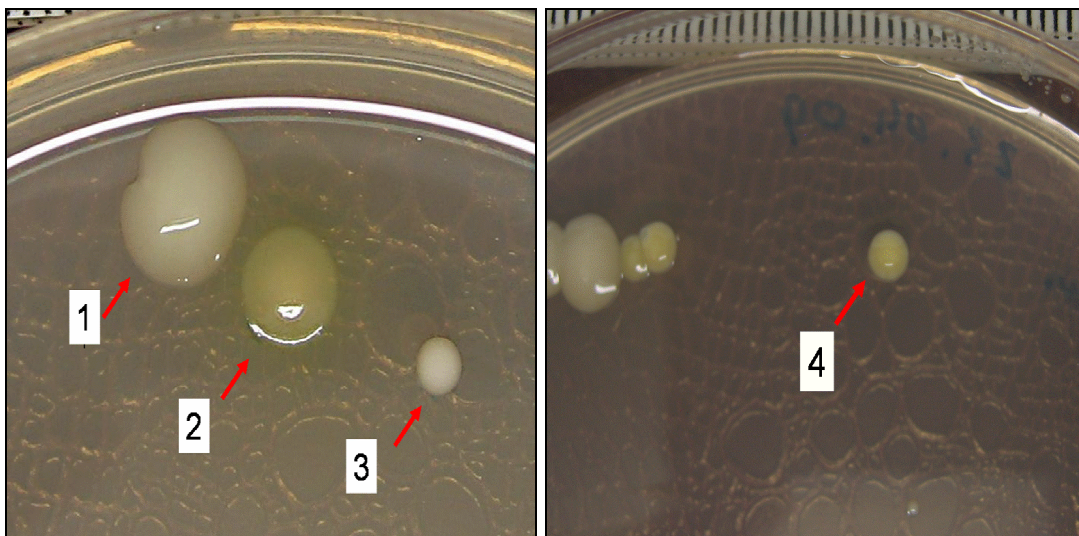


Abbildung 23: Auf cyanidhaltigem (1 mM) TS-Agar gewachsene unterscheidbare Kolonien aus dem Ausstrich des Umlaufwassers der Großanlage CH. Müller

Vowalon:

1. Kolonie: glasig trüb V.GT
2. Kolonie: gläsern gerunzelt V.GG
3. Kolonie: gelb glänzend V.GG
4. Kolonie: milchig trüb V.MT

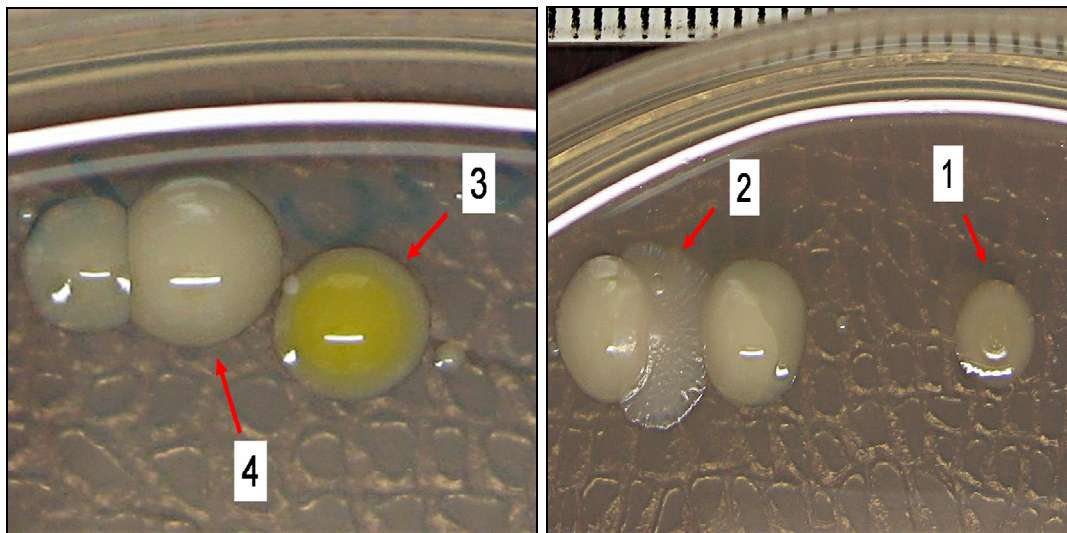


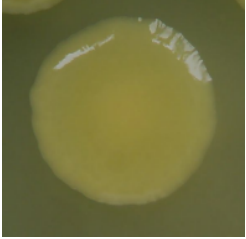




Abbildung 24: Auf cyanidhaltigem (1 mM) TS-Agar gewachsene unterscheidbare Kolonien aus dem Ausstrich des Umlaufwassers der Großanlage Vowalon

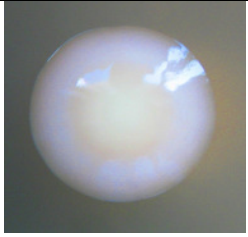
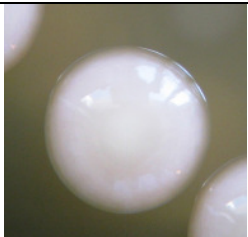

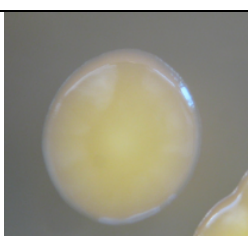
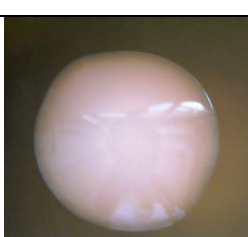
Die Anfangsbezeichnungen V. und CH. beziehen sich jeweils auf Firmennamen Vowalon bzw. CH. Müller, auf deren Gelände die Abluftfilter installiert sind.

Nach Auftrennung der Labormischkultur KS-7D wurden zwei nach morphologischen und farblichen Kriterien unterscheidbare Kolonien erhalten. Sie wurden als KS-7D ET und KS-7D GG bezeichnet.

In Tabelle 8 sind die morphologischen Eigenschaften der Kolonien sowie Aussagen zum Eindruck der Gestalt und Beweglichkeit der Mikroorganismen dargestellt.

Tabelle 8: Morphologische Eigenschaften der Kolonien sowie Gestalt und Beweglichkeit der untersuchten Mikroorganismen (keine eindeutige Aussage [+])

Kultur	Kolonieform	Kolonieprofil	Kolonierand	Innere Struktur/ Oberfläche der Kolonien	Gestalt	Beweglichkeit	Foto der Kolonien
KS- 7D GG	rund	erhaben	leicht wellig	glasig gelblich /glatt	Stäbchen	+	
KS- 7D ET	rund	konvex	glatt	elfenbein- farben / glatt	dicke Stäbchen	+	
C.H. MT	rund	konvex	glatt	milchig trüb / glatt	Stäbchen	+	
C.H. GA	rund	spiegel- ei- förmig	glatt	gelblich / glatt	Stäbchen	+	
C.H. MW	rund	kugelig	glatt	matt weis / rauh	kugelig rund	-	

C.H. MG	rund	kugelig	glatt	matt gelb/ glatt	Stäbchen	-	
V. GT	rund	spiegel- ei- förmig	glatt	glasig trüb / glatt	Stäbchen	+	
V. GG	unregel- mäßig	erhaben	gelappt	glasig/ gerunzelt	dicke Stäbchen	+	
V.G	rund	halb- kugelig	glatt	gelblich / glänzend glatt	dicke Stäbchen	+	
V. MT	rund	konvex	glatt	milchig trüb/glatt	dicke Stäbchen	[+]	

Unter den insgesamt 8 verschiedenen makroskopisch unterscheidbaren Kolonien, der aus beiden Umlaufwässern gefundenen Mikroorganismenspezies, konnten keine Kolonien festgestellt werden, die in der Gesamtheit der Eigenschaften Form, Profil, innerer Struktur und Oberflächenbeschaffenheit eine vollständige Übereinstimmung mit den beiden Kolonien der Labormischkultur KS-7D zeigten.

Gemeinsamkeiten bezüglich der Koloniemorphologie wurden bei den Kolonien der Kulturen CH.MT und V.MT festgestellt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Gestalt wurde jedoch festgestellt, dass es sich bei CH.MT um dünne Stäbchen handelte, während es sich

bei V.MT um kurze dicke Stäbchen handelte. Bei allen anderen aus den Umlaufwässern isolierten Organismen handelte es sich ebenfalls, außer bei CH.MW, um schmale oder dicke stäbchenförmige Bakterien (Abbildung 25, rechts). Die beiden vereinzelt Reinkulturen der Labormischkulturen waren ebenfalls stäbchenförmige Bakterien, jedoch handelte es sich bei KS-7D ET um kurze dicke Stäbchen.

Die Organismen der Kultur CH.MW unterschieden sich von allen anderen untersuchten Mikroorganismenspezies dadurch, dass sie deutlich größer waren und eine deutlich erkennbare kugelige Form besaßen. In Abbildung 25 (links) sind mehrere Zellen zu erkennen, bei denen sich die Ausbildung einer Sprossung vermuten lässt, wie sie bei Hefezellen üblich ist. Bei Zellzusammenlagerungen gleicher Größe sind jeweils deutlich die Zellabgrenzungen zu sehen, während bei den Paaren, welche aus einer größeren und einer kleineren Zelle bestehen keine Abgrenzung zu erkennen ist.

Bei der Beurteilung der Beweglichkeit konnten außer bei V.MT Aussagen getroffen werden. Die Eigenbewegung der Organismen ließ sich deutlich von Bewegungen durch Konvektion abgrenzen.

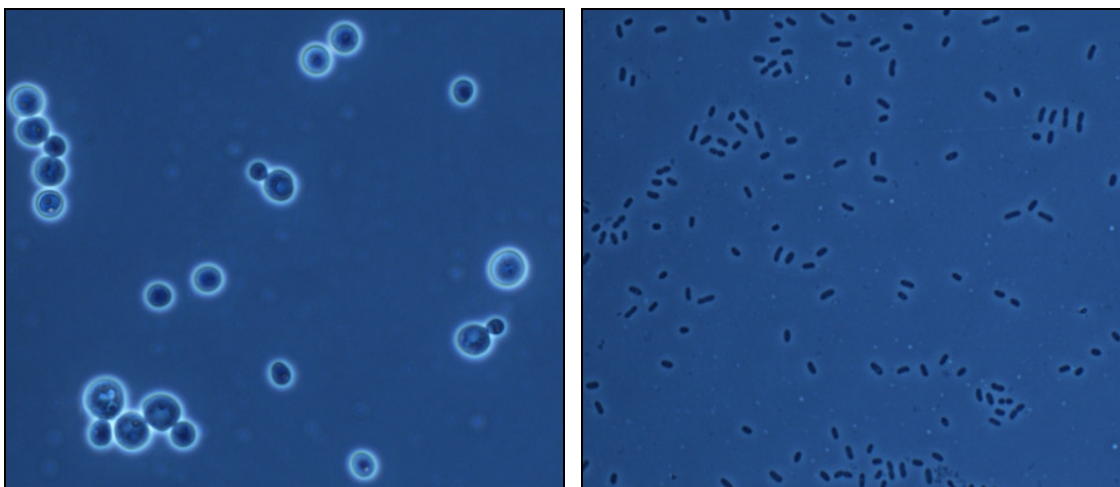


Abbildung 25: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Kulturen CH.MW (links) und CH.MT (rechts) bei 1000-facher Vergrößerung (Öl, 100 x 1,25)

Besonders auffällig zeigten sich die Kolonien der Kultur CH.GA aus dem Umlaufwasser von CH. Müller, bei der eine grün-gelbliche Verfärbung der Umgebung der Kolonien beobachtet wurde (Abbildung 26, links). Diese Verfärbungen konnten nur auf TS-Agar beobachtet werden, auf den selektiven Festmedien mit den verschiedenen Kohlenstoffquellen blieb dieser Effekt aus. Die Beleuchtung der auf TS-Agar ausgestrichenen Kultur mit UV-Licht bei

einer Wellenlänge von 366 nm zeigte die fluoreszierenden Eigenschaften (Abbildung 26, rechts) der Kolonien und deren Umgebung auf. Bei allen anderen untersuchten Kulturen, konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden.

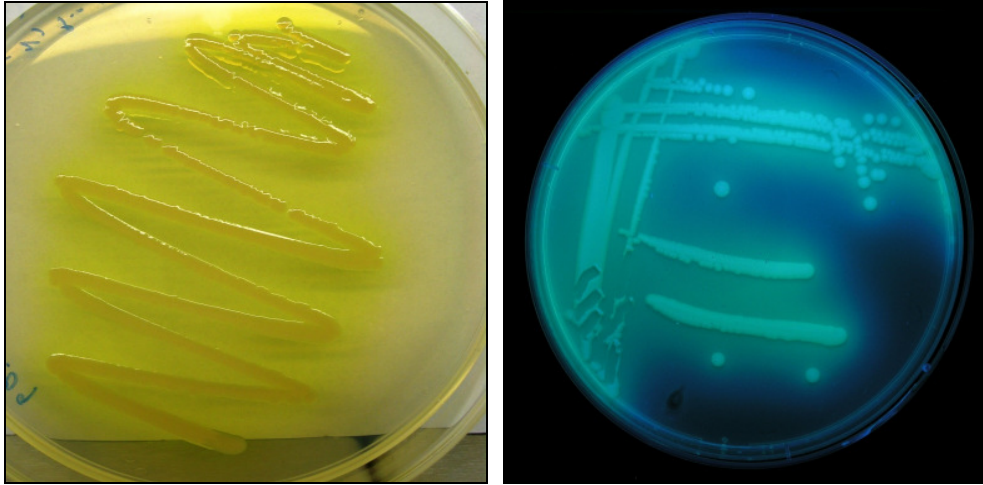


Abbildung 26: Impfausstriche der Kultur CH.GA auf TS-Agar bei Tageslicht (links) und mit UV-Beleuchtung bei einer Wellenlänge von 366 nm

4.2.2 Selektive Fest- und Flüssigmedien

Von den insgesamt 8 aus den Umlaufwässern isolierten Mikroorganismenspezies konnten nach 5 Tagen Inkubation (25°C) bei 6 Kulturen Koloniebildung auf selektiven cyanidhaltigen Festmedien festgestellt werden. Es konnte bei diesen Kulturen ein Wachstum auf allen selektiven Nährmedien mit jeweils Fructose, α - D-Glucose, D- Mannose und Glycerin beobachtet werden.

Bei einigen Ausstrichen war das Wachstum allerdings so schwach ausgeprägt, dass die Kolonien nur bei 40-facher Vergrößerung eindeutig festgestellt werden konnten. Dieser Sachverhalt ist in Tabelle 9 mit eckigen Klammern gekennzeichnet. Bei den Agarplatten, die nur Cyanid als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle enthielten, war bei 5 Kulturen ein Wachstum zu verzeichnen (Tabelle 9). V.GT und CH.MG konnten unter diesen Bedingungen auf keinem dieser Medien kultiviert werden.

Die beiden Reinkulturen der Labormischkultur KS-7D unterschieden sich deutlich in den Versuchsergebnissen. KS-7D ET zeigte auf allen Festmedien Wachstum, wobei die Koloniebildung auf den Medien, außer auf fructosehaltigem Medium, mit bloßem Auge kaum

zu erkennen war. KS-7D GG konnte auf keinem dieser Medien unter diesen Bedingungen kultiviert werden.

Bei den Kultivierungsversuchen in den flüssigen Selektivmedien konnte bei den 6 Kulturen, die bereits Wachstum auf den selektiven Festmedien zeigten, mindestens in fructosehaltigem Medium eine Eintrübung nach 7-tägiger Inkubation festgestellt werden. Jedoch zeigte sich bei den Kultivierungsversuchen in den Flüssigmedien mit den jeweils anderen Kohlenstoffquellen eine nicht Übereinstimmung in einigen Ergebnissen verglichen mit den Versuchen mit den Festmedien (Tabelle 9).

Tabelle 9: Ergebnisse der Kultivierungsversuche mit selektiven Fest- und Flüssigmedien mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen

Zusätzliche Kohlenstoff- quelle	V.GG	V.GT	V.G	V.MT	CH.GA	CH.MW	CH.MG	CH.MT	KS-7D GG	KS-7D ET
Wachstum auf Cyanid-Selektivagar (0,5 mM) mit ausgewählten Kohlenstoffquellen										
Fructose	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
α- D-Glucose	+	-	+	+	+	+	-	+	-	[+]
Glycerin	+	-	+	+	+	[+]	-	+	-	[+]
D-Mannose	+	-	+	+	+	+	-	+	-	[+]
ohne	[+]	-	-	+	[+]	[+]	-	+	-	[+]
Wachstum in selektivem Flüssigmedium (0,5 mM Cyanid) mit ausgewählten Kohlenstoffquellen										
Fructose	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
α- D-Glucose	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Glycerin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Mannose	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
ohne	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4.2.3 Gram-Verhalten , Katalase - Nachweis und Oxidasetest

Die Untersuchung des Gram-Verhaltens der verschiedenen Mikroben ergab, dass nur für die Kultur CH.MW der Gram-Test positiv ausfiel (KOH-Test und LAAP-Test). Der Katalase-Test ergab für alle Organismen ein positives Ergebnis. Bei der Auswertung der Oxidase-Tests konnten bei den 8 aus den Umlaufwasserproben isolierten Mikroorganismenspezies nur bei den Kulturen CH.GA und V.GG positive Ergebnisse festgestellt werden. Allen anderen zeigten ein negatives Ergebnis. Die beiden Reinkulturen der Labormischkultur unterschieden sich im Ergebnis des Oxidasetests.

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der Bestimmung des Gram-Verhaltens, des Katalase-Nachweises sowie der Oxidase-Tests zusammenfassend dargestellt. Die positiven Testergebnisse bei den Tests zum Gram-Verhalten zeigten an, dass es sich um Gram-negative Bakterien handelte.

Tabelle 10. Ergebnisse der KOH,-LAAP,-Katalase-und Oxidasetests

Test	V. GG	V. GT	V.G	V.MT	CH. GA	CH .MW	CH. MG	CH.MT	KS-7D GG	KS-7D ET
KOH	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
LAAP	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Gram-verhalten	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+

4.2.4 Differenzierung mittels standardisierter Testsysteme

Nach der Auswertung der Testsysteme zeigte sich, dass alle untersuchten Kulturen nach diesem Test eindeutig differenzierbar waren. Die Kultur CH.MW zeigte auf keinem der Medien des Enterotube II -Testsystems eine positive Reaktion. V.MT und CH.MT unterschieden sich nur in der Indolreaktion. In Tabelle 11 sind die Ergebnisse zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 11: Ergebnisse der Differenzierungsversuche mittels standardisierter Testsysteme

Oxi/Ferm Tube II				Enterotube II							
Kultur Test	V.GG	CH.GA	KS-7D ET	Kultur Test	KS-7D GG	V.GT	V.G	V.MT	CH.MG	CH.FT	CH.MW
ANA-GLU	-	+	-	GLU	-	-	+	+	+	+	-
ARG	-	+	-	GAS	-	-	-	+	-	+	-
LYS	-	-	-	LYS	+	+	-	+	+	+	-
LAC	-	-	-	LAC	-	-	+	+	-	+	-
N ₂	-	-	-	H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
SUC	-	-	-	ADON	-	-	-	+	-	+	-
IND	-	-	-	IND	-	-	-	+	-	-	-
XYL	-	+	-	ORN	-	-	-	-	-	-	-
AER-GLUC	-	+	-	ARAB	-	+	+	+	-	+	-
MAL	-	-	-	SORB	-	-	+	+	-	+	-
MAN	-	-	-	DUL	-	-	+	-	-	-	-
PA	-	-	-	PA	-	-	-	-	-	-	-
UREA	-	-	+	UREA	+	+	-	+	+	+	-
CIT	+	+	-	CIT	-	-	+	+	+	+	-
/	/	/	/	VP	/	/	/	/	/	/	/

Ein Vergleich aller vorliegenden Untersuchungsergebnisse der beiden Reinkulturen der Labormischkultur KS-7D mit den von der DSMZ vorliegenden Ergebnissen für die physiologischen Tests von *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* ergab die in Tabelle 12 zusammenfassend dargestellten Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten.

Die Tabelle beinhaltet nicht die Ergebnisse der selektiven Nährmedien mit den verschiedenen Kohlenstoffquellen. Die Reaktionen, die mit den standardisierten Testsystemen (aufgrund unterschiedlicher Reaktionskammern) für die Mikroorganismenspezies nicht bestimmt wurden, sind in der Tabelle durch einen Schrägstrich gekennzeichnet.

Tabelle 12: Gegenüberstellung der ermittelten Ergebnisse für die beiden Reinkulturen der Labormischkultur KS-7D und den physiologischen Daten von *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* (nach DSMZ und Holt et al., 2000)

Eigenschaft	<i>Cupriavidus eutrophus</i>	<i>Cupriavidus basilensis</i>	KS-7D ET	KS-7D GG
Form	dicke Stäbchen	Stäbchen	dicke Stäbchen	Stäbchen
Beweglichkeit	+	+	+	+
KOH (3 %)	+	+	+	+
Aminopeptidase	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	-
Citrat	-	+	-	-
Glucose	-	-	-	-
Mannose	-	-	-	/
Fructose	+	+	/	/
Maltose	-	-	-	/
Arabinose	-	-	/	-
Xylose	-	-	-	/
Mannit	-	-	-	/
Harnstoff	+	+	+	+

Wie in Tabelle 12 zu erkennen, stimmten die Ergebnisse von *Cupriavidus eutrophus* und KS-7D ET in den Daten der DSMZ und den in der Tabelle dargestellten Untersuchungsergebnissen überein. Für die Daten von *Cupriavidus basilensis* konnte mit keiner der beiden Reinkulturen eine vollständige Übereinstimmung festgestellt werden, was eine Veränderung der Zusammensetzung der untersuchten Labormischkultur anzeigte.

Unter den aus den Umlaufwässern isolierten Mikroorganismenspezies konnte mit den eingesetzten Untersuchungsmethoden bei keiner eine Übereinstimmung in den ermittelten Untersuchungsergebnissen mit den beiden Spezies von KS-7D, *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis*, festgestellt werden. Die meisten aus dem Umlaufwasser isolierten Spezies waren oxidase-negativ. Bei *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* handelt es sich um oxidase-positive Organismen (siehe Anhang A- 6). Die zwei Isolate CH.GA und V.GG, die ein positives Ergebnis beim Oxidasetest zeigten, wiesen abweichende Eigenschaften auf, die nach der DSMZ nicht den Eigenschaften der Organismen der Mischkultur KS-7D zugeordnet werden können. Des Weiteren wurden die fluoreszierenden Eigenschaften der Kolonien von CH.GA und die auffällig gerunzelte Kolonieform von V.GG bisher nicht bei der Mischkultur KS-7D beobachtet, seit diese im Jahr 2006 am STFI in Kultur genommen wurde.

4.3 Diskussion

Dass aus jedem der Umlaufwasserproben 4 unterschiedliche Mikroorganismenspezies isoliert werden konnten, zeigt, dass mit dem Abgasstrom bzw. Wassereintrag weitere Organismen in das System eingetragen wurden, die offensichtlich unter den herrschenden Bedingungen überleben konnten. Dies kann damit begründet werden, dass biologische Verfahrenstechniken zum Schadstoffabbau, die als offene Systeme betrieben werden, meist zur Ausbildung heterogener Kulturen führen, die in einem aufeinander abgestimmten Zusammenspiel verschiedener Organismen in einer Biozönose münden (Bartholmes et al., 1996). Durch die Art und Weise der Untersuchung blieben höhere Organismen, wie Protozoen, unbetrachtet, da die angewandten Methoden nur Organismen berücksichtigten die auf Agar Kolonien bilden.

Da hier jeweils nur 4 unterschiedliche Arten von Mikroorganismen kultiviert werden konnten, obwohl mitunter mehr als 100 Arten von Bakterien gleichzeitig anwesend sein können (Fritzsche, 1998), deutet auf einen hohen Selektionsdruck im System hin (Bartholmes et al., 1996). Jedoch sind viele Arten nicht oder nur schwer kultivierbar (Fritzsche, 1998). Durch die Probenahme aus dem Umlaufwasser wurden jedoch nur frei suspendierte Organismen erfasst. Mögliche weitere auf den Trägermaterialien immobilisierte Organismenarten blieben durch die Art der Beprobung von der Erfassung ausgeschlossen. Durch die aeroben Kultivierungsbedingungen blieben außerdem strikt anaerobe Bakterien ausgeschlossen.

Die Cyanidkonzentrationen des Agars, auf dem die Mikroorganismen kultiviert wurden, lagen zwischen 6,5 mg /L und 26 mg /L. Bei der Auswahl der Cyanidkonzentrationen für den TS-Agar wurde sich an dem Bereich orientiert, in dem die Cyanid- Konzentrationen des Umlaufwassers lagen (siehe Kapitel 3.2.2). Für die Umlaufwasserproben wurde die Konzentration an Gesamtcyanid bestimmt, und damit auch komplex gebundene Cyanide mit erfasst. Dadurch könnte ein höherer Anteil an Cyanwasserstoff im Agar als im Umlaufwasser eine verstärkte ausschließende Wirkung gehabt haben, und damit einen Minderbefund bei der Anzahl unterschiedlicher Mikroorganismenarten bedingt haben. Jedoch können die CN-Gruppen der als Gesamt-Cyanid definierten Verbindungen sich im Wasser ganz oder teilweise zu Cyanid-Ionen oder Cyanwasserstoff umsetzen (DEV, 1981). Außerdem ist es wahrscheinlich, dass das Cyanid in undefinierter Menge und Geschwindigkeit in Form von Cyanwasserstoff aufgrund seines hohen Dampfdrucks aus dem Agar ausdiffundierte und die Konzentration an Cyanid im Agar bei der Kultivierung niedriger war, als ursprünglich

errechnet. Dies hätte durch eine Kultivierung unter cyanwasserstoffhaltiger Atmosphäre verhindert werden können, worauf aus Arbeitsschutzgründen verzichtet wurde.

Neben beweglichen bzw. unbeweglichen stäbchenförmigen Bakterien, konnten bei der Kultur CH.MW Eigenschaften beobachtet werden, die auf eine Hefe schließen lassen. Das bedeutet, dass sich im Umlaufwasser der Anlage von CH. Müller neben Bakterien auch ein eukaryotischer Mikroorganismus in die Mikroflora eingegliedert haben könnte.

Die fluoreszierenden Eigenschaften der Kolonien der Kultur CH.GA konnten als Merkmal zur Abgrenzung von allen anderen untersuchten Organismen verwendet werden, da dieser Sachverhalt bei keiner anderen Kultur beobachtet werden konnte. Beispielsweise scheiden Spezies der Gattung *Pseudomonas* häufig Pigmente ins Medium aus, von denen einige fluoreszieren (Steinbüchel und Oppermann-Sanio, 2003). *Pseudomonas fluorescens* wird durchaus häufig als Cyanidabbauer beschrieben, beispielsweise durch Kunz et al. (1992) und Knowles (1988). Zu Gattung und Spezies können anhand der angewandten Untersuchungsmethoden jedoch keine Aussagen getroffen werden, sondern nur Vermutungen angestellt werden.

Bei den Ergebnissen der Kultivierung auf Fest- und Flüssigmedium konnten bei einigen Kulturen Unterschiede festgestellt werden. Alle auf cyanidhaltigem Agar kultivierbaren Organismen zeigten auf allen Festmedien mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen und ohne zusätzliche Kohlenstoffquelle Wachstum, während bei den Flüssigmedien mit Glycerin und ohne zusätzliche Kohlenstoffquelle keine Eintrübung festgestellt werden konnte. Die Unterschiede könnten sich zum einen damit erklären lassen, dass ein schwaches Wachstum auf Festmedium, wie es zum Teil beobachtet wurde, anhand der Messung und Beurteilung der Trübung der Flüssigkultur nicht mehr wahrgenommen werden konnte. Zum anderen kann eine Verwertung von Agarbestandteilen durch die Mikroorganismen nicht ausgeschlossen werden. Agar wird zwar von der überwiegenden Zahl der Mikroorganismen nicht angegriffen, jedoch sind unter den Gattungen *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* und *Alcaligenes* Agarersetzer zu finden (Schlegel, 1985). Eine Identifizierung der kultivierten Organismen hat im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht stattgefunden. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass sich unter diesen Organismen Spezies dieser Gattungen befanden. Zudem wurden die Anlagen mit einer Mischkultur von *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* beimpft, von denen laut DSMZ *Cupriavidus eutrophus* unter anderem früher unter der Bezeichnung *Alcaligenes eutrophus*

geführt wurde. Typische Anzeichen der Agarverwertung, wie das Einsinken der Kolonien (Schlegel, 1985), konnten durch die geringe Größe der Kolonien nicht festgestellt werden.

Trotz unterschiedlicher Ergebnisse bei den selektiven Fest- und Flüssigmedien konnte bei jeweils 3 der 4 aus den beiden Umlaufwässern isolierten Mikroorganismenarten die Fähigkeit zur Cyanidverwertung festgestellt werden, da bei diesen Mikroorganismen mindestens in fruktosehaltigem Medium eine Eintrübung festgestellt werden konnte, die auf eine Mikroorganismenvermehrung zurückzuführen war.

Bei der Kultur CH.MW, bei der die Vermutung nahe liegt, dass es sich um eine Hefe handelt, wurde ebenfalls die Fähigkeit zur Cyanidverwertung beobachtet. Über zwei Hefestämme, die Nitrile als C-Quelle verwerten können, *Cryptococcus humicolus* und *Candida guilliermondii*, berichteten Ebbs et al., (2006).

Bei den beiden Organismen, die nicht auf Medium mit Cyanid als einzige Stickstoffquelle kultiviert werden konnten, kann die Befähigung zum Abbau von Cyaniden nicht ausgeschlossen werden. Möglicherweise sind diese Organismen auf Kohlenstoffquellen angewiesen, die nur durch die Stoffzusammensetzungen in der Anlage zur Verfügung standen, wodurch sich das Abbauspektrum der Anlage erweitern würde. Es könnten jedoch auch die gewählten Cyanidkonzentrationen (0,5mM) der selektiven Medien für ein Wachstum zu hoch gewesen sein. Bryniok (2004) beschreibt diesen Sachverhalt für die Mischkultur KS-7D, welche bei Konzentrationen über 0,25 mM kein bakterielles Wachstum zeigt. Dass diese Organismen nicht auf den selektiven Medien kultiviert werden konnten, könnte auch daran liegen, dass in einer Mischkultur kometabolische Abläufe eine wichtige Rolle spielen. Isoliert man Mikroorganismen aus einer Biozönose und setzt sie als Reinkultur an, kann es zur Bildung von toxischen Verbindungen kommen, die in der Mischkultur nicht auftreten, da ein weiterer Organismus diese Verbindungen als Substrat nutzt (Bartholmes et al., 1996). Möglicherweise sind diese Organismen als Bestandteil einer ineinander greifenden Mikroflora auf Substrate angewiesen, die von einer weiteren Art nur bis zu einem bestimmten Zwischenprodukt abgebaut werden können (VDI 3478, 2008). Der TS-Agar stellte ein verwertbares Substrat möglicherweise zur Verfügung.

Eine Differenzierung der Bakterien bezüglich des Gram-Verhaltens (KOH -und LAAP- Test) konnte bis auf die Kultur CH.MW nicht vorgenommen werden, da alle Organismenarten, bis auf CH.MW, bei der es sich vermutlich um eine Hefe handelt, ein gramnegatives Verhalten zeigten. Der Katalasetest fiel für alle Organismen positiv aus, da in der Regel alle an

Luftsauerstoff wachsenden Mikroorganismen, mit Ausnahme der Milchsäurebakterien über das Enzym Katalase verfügen (Steinbüchel und Oppermann-Sanio, 2003).

Mit Hilfe der standardisierten Testsysteme und des vorgeschalteten Oxidase-Tests konnten die Organismen in mindestens einer Reaktion voneinander unterschieden werden. Für die parallel untersuchten Einzelkulturen der Labormischkultur KS-7D konnte festgestellt werden, dass der untersuchte Ansatz der Mischkultur vermutlich nicht mehr in der ursprünglichen Zusammensetzung vorliegt, und es sich damit nicht mehr um KS-7D handelte. Dafür spricht zum einen die Tatsache, dass der Oxidasetest bei KS-7D GG negativ ausfiel. Bei *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* handelt es sich laut DSMZ um oxidase-positive Organismen (Bryniok 2004). Für KS-7D ET konnte eine Übereinstimmung in den Untersuchungsergebnissen und den von der DSMZ festgestellten Eigenschaften für *Cupriavidus eutrophus* festgestellt werden. Das Wachstum auf weiteren selektiven Nährböden, außer Fructose könnte auch hier auf eine Verwertung von Agarbestandteilen hindeuten. Sollte es sich bei KS-7D ET um *Cupriavidus eutrophus* handeln, könnte eine Verwertung von Glucose auf eine ausgebildete Mutation des Stammes hindeuten. Solche Mutationen sind für *Ralstonia eutropha* (frühere Bezeichnung) jedoch bei Anwesenheit von Nitrit im leicht sauren Milieu durch Steinbüchel und Oppermann-Sanio (2003) beschrieben.

Abweichende Ergebnisse, wie ein negativer Oxidasetest bzw. Abweichungen bei den Ergebnissen beim Oxi/Ferm Tube II –Test gegenüber der Beschreibung der DSMZ, lassen die Vermutung zu, dass sich unter den aus den Umlaufwasserproben isolierten Mikroorganismen nicht KS-7D befand. Die Ergebnisse der durchgeführten Tests mit den standardisierten Testsystemen können aufgrund der von der Bedienungsanleitung abweichender Inkubationstemperatur sowie der Tatsache, dass sie nur einmal durchgeführt wurden, fehlerbehaftet sein. Für eine genauere Bestimmung der Organismen wären jedoch molekularbiologische Methoden notwendig gewesen, die im Rahmen dieser Diplomarbeit nicht durchgeführt wurden.

Dass sich KS-7D drei Monate nach dem Beimpfen beider Anlagen möglicherweise nicht unter den aus den Umlaufwasserproben isolierten Mikroorganismenspezies befand, ließe sich damit erklären, dass Laborstämme, den in das offene biologische System eingetragenen Mikroorganismen häufig in Bezug auf Robustheit unterlegen sind, sodass nach einigen Wochen Betriebszeit die Ausgangskultur durch eine Wildflora ersetzt worden ist (VDI 3478, 2008).

Daher stellt sich die Frage, ob ein Animpfen mit der Starterkultur KS-7D überhaupt notwendig gewesen wäre bzw. ob im Fall einer Havarie ein erneutes Animpfen notwendig ist. Eine Havarie könnte durch Vergiftungserscheinungen, Austrocknung und weitere physikochemische Einflüsse die Anlagenbiozönose derart geschädigt werden, dass ein biologischer Abbau der Schadstoffe (Cyanide) vorübergehend nicht mehr stattfinden kann. Für einen schnellen Start bzw. Neustart kann es nachweislich sinnvoll sein, im Labor einen geeigneten Mikroorganismenstamm anzuzüchten, in größerem Maßstab zu kultivieren und damit die Anlage zu beimpfen. In der Tat etablieren sich derartig spezialisierte Kulturen manchmal in solchen Verfahren und bleiben über lange Zeiträume aktiv (Raphael, 1996). Bei der Behandlung chemischer Abwässer aus der Industrie, wird davon ausgegangen, dass die Behandlung von Schadstoffen mit Hilfe von Starterkulturen aus dem Labor am ehesten gelingt, wenn die stoffliche Zusammensetzung der Prozesswässer relativ überschaubar ist und die durch Spezialorganismen zu behandelnden Stoffe gleichbleibend selektive Bedingungen liefern. Es sollten weder größere Belastungspausen, noch stoffliche Überlasten (Stoßbelastungen) auftreten (Ottow und Bidlingmaier, 1997). Beim hier untersuchten Verfahren ist jedoch mit stark schwankenden Belastungsströmen zu rechnen wie die Untersuchungen unter Punkt 3 gezeigt haben. Bei Zersetzungsvorgängen von Kunststoffen, wie sie beim Flammkaschieren stattfinden, ist jedoch nahezu immer mit einem komplexen Gemisch teilweise auch unbekannter Stoffe zu rechnen (Pfeifer, 1995), sodass der geforderte Selektionsvorteil vermutlich nicht konstant vorhanden ist.

Die Ergebnisse der durchgeführten Versuche zeigen, dass sich in der Anlage weitere Organismen angesiedelt haben, die zum Cyanidabbau befähigt sind und auch das wöchentliche zugesetzte Substrat Fructose verwerten können. Damit ist davon auszugehen, dass die angeimpfte Starterkultur KS-7D in beiden Anlagen ihren Selektionsvorteil, die Cyanidverwertung, gegenüber anderen Organismen verloren hat und es zu einem Überwuchern durch andere Organismen gekommen sein könnte. Da bei beiden Großanlagen 5 Monate nach Animpfen mit KS-7D noch keine ausreichende Effizienz bei der Cyanidelimination zu erkennen war und die Angeimpfte Kultur möglicherweise bereits durch andere cyanidabbauende Mikroorganismen ersetzt wurde, wäre ein Animpfen mit der Mischkultur nicht notwendig gewesen.

Es sollte daher im Einzelfall anhand der Schadstoffkontinuität und der zu erwartenden Zusammensetzung der Abluftströme abgeschätzt werden, ob ein Animpfen mit einer Spezialkultur sinnvoll und wirtschaftlich vertretbar ist.

5 Gesamtdiskussion

Bei Betrachtung der im Rahmen der vorliegenden Arbeit gemachten Beobachtungen und den Erkenntnissen, die bisher mit der biologischen Abluftreinigung cyanidhaltiger Abluftströme am STFI gemacht wurden, ist festzustellen, dass die Abluftreinigung unter Laborbedingungen funktioniert, aber bei Übertragung in größere Maßstäbe und unter Realbedingungen bereits abweichende Ergebnisse erzielt wurden.

In Abbauversuchen im Labormaßstab wurde aus simulierten quasikontinuierlichen Belastungsströmen eine fast vollständige Cyanidelimination erreicht, während bei den Großanlagen aufgrund der beobachteten Abscheidegrade nicht von stabilen und effizienten Cyanidelimination ausgegangen werden kann. Die Gründe für diese Unterschiede können vielseitig sein. In den Laborversuchen wird mit gleichbleibenden für die Mikroorganismen optimalen Bedingungen gearbeitet, während die stoffliche Zusammensetzung und die Kontinuität der Schadstofflasten in der Abluft unter realen Bedingungen relativ unüberschaubar sind. Zudem sind durch die Mikroorganismen mitunter länger andauernde Hungerphasen zu überstehen.

Die unter Laborbedingungen beschriebenen Abbauraten werden häufig mit hohen Zelldichten der Spezialorganismen erzielt, die in der Praxis selten oder überhaupt nicht erreicht werden (Ottow und Bidlingmaier, 1997). Dieser Sachverhalt kann auch bei den hier erzielten Ergebnissen beobachtet werden. Die unter Laborbedingungen erreichten Abbauraten wurden mit Zelldichten in der Nährlösung erreicht, die sich im Bereich von mindestens 10^9 stabilisierten, während diese Werte bei den Großanlagen nie erreicht wurden und starke Schwankungen (teilweise im Bereich von 10^3) bei den KBE-Zahlen cyanidverwertender Mikroorganismen im Umlaufwasser im Wochenabstand zu beobachten waren. Zudem bestehen zwischen Laboranlage und Großanlage Unterschiede in der Zusammensetzung der Mikroflora, wie die Ergebnisse der Untersuchungen unter Kapitel 4 zeigen.

In den Laborversuchen mit unterschiedlichen Aufwuchsträgern wurde aufgrund der Materialeigenschaften des Granulats auf ein besseres Vermögen der Biomasserückhaltung gegenüber dem weitmaschigen Schlingseil geschlossen. Ein besseres Abbauverhalten konnte im Labor jedoch aufgrund der noch nicht erreichten Belastungsgrenze des Systems nicht festgestellt werden. Möglicherweise sind die in den Großanlagen eingesetzten Pall®-Ringe für dieses Verfahren ungeeignet, da sie keine Pufferkapazität besitzen oder die

Biomasserückhaltung aufgrund ihrer Struktur zu gering ist. Bei besserer Biomasserückhaltung durch stärkere Biofilmbildung könnten eventuell auch Konzentrationsschwankungen besser ausgeglichen werden, da in Biofilmen durch adsorptive Anreicherung von Substraten auch Verbindungen aus vergleichsweise gering konzentrierten Lösungen mit genügend hohen Umsatzraten abgebaut werden können (Martienssen, 2001).

Die Art des eingesetzten Aufwuchsträgers ist möglicherweise ein entscheidender Einflussfaktor bei der biologischen Abluftreinigung cyanidhaltiger Abluftströme. Darauf deuten auch die unterschiedlichen Ergebnisse zweier Pilotanlagen hin, die im Jahre 2007 und 2008 auf dem Gelände der Fa. Kunz zur Reinigung cyanidbelasteter Abluftströme betrieben wurden (Mählmann und Sallat, 2008; Helmert, 2008).

Durch eine erste Pilotanlage im Kubikmetermaßstab konnten die Emissionen von Cyanwasserstoff in der Reinluft bis zur Nachweisgrenze von 0,5 ppm in der Reinluft gesenkt werden. Bei dieser Anlage wurde ein granulärer Aufwuchsträger auf Cellulosebasis, versetzt mit Eisenhydroxid und Aktivkohle, verwendet (Mählmann und Sallat, 2008). Mit einer weiteren Pilotanlage (0,5 m³ Filtervolumen), die im Rahmen einer Diplomarbeit am selben Standort betrieben worden war, wurden Abscheidegrade von ca. 42% erreicht (Helmert, 2008). Bei dieser Anlage wurden Matten aus dem am STFI gefertigten Schlingseil eingesetzt. Die Pufferkapazität des Granulats sowie Unterschiede in der Bauweise könnten zu den unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben. Das bereits in die Großanlagen eingebaute Cellulosegranulat wurde aufgrund von Verblockungen gegen die Pall®-Ringe ersetzt. Als Grund der Verblockung wird zu starkes Quellen sowie eine zu hohe Schüttdichte vermutet.

Ein weiterer Grund für die Ineffizienz bei den Abscheidegraden ist wahrscheinlich in der Kontaktzeit des Gases in den Anlagen zu sehen. Während bei der Pilotanlage im Kubikmetermaßstab eine Kontaktzeit von ca. 100 Sekunden und für die Laboranlage eine Kontaktzeit von ca. 120 Sekunden ermittelt wurde, war die Gaskontaktzeit bei den Großanlagen mit 4 bzw. 6 Sekunden deutlich geringer.

Zur Verbesserung der Effizienz der Großanlagen wären eine Reihe von Verbesserungsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen. Eine Kombination aus einem Granulat mit einer Wasserspeicherkapazität und einem Kunststoffaufwuchsträger wäre möglich. Des Weiteren sollte das Anlagenkonzept bezüglich des Volumenstroms und der Anlagendimensionierung überarbeitet werden, um eine längere Gaskontaktzeit zu

ermöglichen. In den Gleichstromfiltern der Anlagen könnte die Abluft wie in den Gegenstromfiltern ebenfalls im Gegenstrom zur Umlaufflüssigkeit geführt werden. So könnte der Stoffübergang von der Gasphase in die flüssige Phase möglicherweise weiter verbessert werden.

Die Verbesserung der Effizienz und die Sicherung der Langzeitstabilität erfordert ebenfalls detaillierte Kenntnis von externen Faktoren, die das Betriebsverhalten unter realen Bedingungen beeinflussen. Von besonderem Interesse sollte dabei die Zusammensetzung der Abluft stehen, um den Einfluss störender Substanzen abschätzen zu können. Des Weiteren sollte der Einfluss von Jahreszeit bedingten Außentemperaturschwankungen und Stillstandzeiten auf das System untersucht werden. Bei den verfahrenstechnischen Parametern sollten optimale Bedingungen durch Art und Dosiermenge von Co-Substraten, Befeuchtungszyklus und Art der Aufwuchsträger herausgearbeitet werden.

Zur Verminderung von Cyanidemissionen könnten Maßnahmen getroffen werden, die Emissionen bereits bei ihrer Entstehung zu minimieren. Diese könnten beispielsweise darin bestehen, Prozessoptimierungen beim Anflammen der Schäume vorzunehmen oder Schaumstoffe einzusetzen, die beim Anflammen geringere Mengen an Cyanid emittieren.

6 Zusammenfassung

Aus wirtschaftlichen Gründen findet die Flammkaschierung für die Herstellung von Kaschierverbunden aus Polyurethanschäumen und Textilien, wie sie beispielsweise in der Fahrzeugindustrie Medizintechnik oder in der Möbelindustrie eingesetzt werden, noch breite Anwendung. Durch das Anflammen der Schaumoberfläche können u. a. Emissionen an Cyanwasserstoff, Acrylnitril, anderen Nitrilen, Isocyanaten, Aldehyden, Halogenkohlenwasserstoffen, sowie an Benzol und 1,2-Dichlorethan auftreten (BIA, 1994; BLU, 2004). Die bei der Flammkaschierung entstehenden Abgase werden abgesaugt und ins Freie geleitet. Dem Cyanwasserstoff kommt dabei bezüglich der Ökotoxizität die größte Bedeutung zu. Wasserlösliche Cyanide, zu denen u. a. der Cyanwasserstoff gehört, sind äußerst giftig und als hochgradig wassergefährdend eingestuft (Schlegel, 1992). Die bisher aus der Abwasserbehandlung bestehenden Techniken zur Cyanidentgiftung, bei denen es sich meist um Oxidationsmethoden handelt, sind zu teuer oder zu ineffizient (Bryniok, 2004).

Eine Alternative besteht in der biologischen Abluftreinigung. Im Jahr 2004 konnte von einem kontaminierten Kokereistandort die Mischkultur KS-7D, bestehend aus *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis*, isoliert werden, die in der Lage ist, Cyanid mit hohen Umsatzraten zu oxidieren. KS-7D zeichnet sich durch eine außerordentlich hohe Toleranz gegenüber Cyanid sowie durch seine gute und einfache Immobilisierbarkeit aus. Die Mischkultur ist daher für Anwendungen in Biofiltern, Biowäschern und Biorieselbettreaktoren geeignet (Bryniok, 2004). Im Rahmen des BMWi-Forschungsprojektes „Minderung von Cyanidemissionen bei der Flammkaschierung - Biologischer Abluftfilter zur Cyanid-Elimination in der Textilveredlungsindustrie“ wurde von den am Projekt beteiligten Partnern ein Konzept eines Biorieselbettverfahrens zur effektiven Reinigung HCN-belasteter Abluftströme aus Flammkaschiervorgängen entwickelt. Die Funktionstüchtigkeit des biologischen Verfahrens konnte in Laborversuchen am STFI sowie im Kubikmetermaßstab unter Realbedingungen nachgewiesen werden.

Auf der Grundlage gewonnener Erkenntnisse wurden im Jahr 2008 bei den flammkaschierenden Betrieben Vowalon (Treuen) und CH. Müller (Netzsckau) zwei Großanlagen errichtet, um daran das Verfahren der biologischen Abluftreinigung langfristig auf seine Effizienz und Prozessstabilität zu untersuchen.

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurde am STFI ein Verfahrenskonzept mit kontinuierlich cyanidbelasteten Abluftströmen im Labormaßstab über mehrere Wochen

erprobt. Dabei wurde das Systemverhalten bezüglich der Cyanwasserstoffelimination bei Einsatz zweier Aufwuchsträgervarianten vergleichend untersucht. Bei den Aufwuchsträgevarianten handelte es sich um das am STFI gefertigte Schlingseil aus PP-Bändchenmaterial ohne Wasserspeicherkapazität sowie das UGN[®]-Langfaserfiltergranulat (TITK) aus PP- und Viskosefasern ohne Wasserspeicherkapazität. Für die Abbauprobversuche wurde der Laborrieselbettreaktor mit der cyanidverwertenden Mischkultur KS-7D, bestehend aus *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis*, beimpft. Als Kohlenstoffquelle für die Mischkultur KS-7D diente Fructose. Mit der Versuchsvariante Schlingseil konnte im 2-wöchigen Versuchszeitraum eine ausgestrippte Cyanidfracht von 38,1 mg zu 77,9 % eliminiert werden, mit der Variante Granulat wurde 31,7 mg Cyanwasserstoff zu 79,0 % eliminiert. Von den ausgestrippten Massen wurden 1,76 % (Variante Schlingseil) und 1,74 % (Variante Granulat) des ausgestrippten Cyanids in der Nährlösung und in der NaOH-Lösung (Sicherheitsabsorptionslösung) nachgewiesen bzw. mit den Probenahmen entfernt. Die jeweils restlichen Prozentanteile wurden als Systemverluste definiert, welche für beide Versuchsvarianten durch den Betrieb eines sterilen Referenzfilters ermittelt wurden. Aufgrund der niedrigen Wiederfindungsraten in den Abbauprobversuchen wurde darauf geschlossen, dass die Leistungsgrenzen des Systems nicht erreicht wurden. Durch die geringere optische Dichte der Nährlösung bei dem Abbauprobversuch mit Granulat, wurde auf eine stärkere Biomasserückhaltung des Granulats geschlossen. Die Wirkungsgrade beider Versuchsvarianten lagen mit 77,9 % für die Variante mit Schlingseil und 79,0 % für die Variante mit Granulat eng beieinander. Ein Vorteil bezüglich des Systemverhaltens der bei der Cyanidelimination konnte für keine der beiden Aufwuchsträgervarianten herausgestellt werden.

Zur Untersuchung der Effizienz und der Prozessstabilität beider Großanlagen wurden über einen Zeitraum von 15 Wochen ausgewählte Parameter ermittelt. Die nasschemische Bestimmung der CN⁻-Konzentration in Roh- und Reinluft zeigte, dass die Abscheidegrade der Anlagen unbefriedigend waren. Die CN⁻-Konzentrationen auf der Reinluftseite lagen für beide Anlagen jeweils nur geringfügig über der CN⁻-Konzentration der Rohluftseite. Zweimal wurden bei beiden Anlagen höhere CN⁻-Konzentrationen auf der Reinluftseite als auf der Rohluftseite gemessen. Größere Schwankungen des Gesamtcyanidgehalts im Umlaufwasser konnten mit stark schwankenden Cyanidfrachten in der Abluft erklärt werden. Ein Zusammenhang zwischen den wöchentlich ermittelten KBE-Werten cyanid- und fruktoseverwertender Mikroorganismen in den Umlaufwässern und den ermittelten Abscheidegraden konnte nicht festgestellt werden. Bei der Untersuchung des Umlaufwassers bezüglich der biologischen Abbaubarkeit wurde in der 14. Versuchswoche

für beide Anlagen ein ungünstiges C:N:P- Verhältnis ermittelt. Die ermittelten biochemischen Abbaugrade α beider Wässer deuten ebenfalls auf einen hohen Anteil biologisch nicht abbaubarer Stoffe hin. Ebenfalls ungünstig waren die im Verhältnis zum Gesamtcyanid hohen Werte an Nitrat und Ammonium, da diese Substanzen aufgrund ihrer einfacheren Verwertbarkeit die mikrobielle Cyanidelimination behindern können. Die Untersuchungen zeigen, dass beide Anlagen nach ca. 8-monatigem Probebetrieb unzureichende Abscheidegrade erreichen, sodass bei höheren Cyanidfrachten eine deutliche Grenzwertüberschreitung nicht ausgeschlossen werden kann.

Um einen Eindruck von der Zusammensetzung der Biozönose der Anlagen zu erhalten, wurden Mikroorganismen aus den Umlaufwässern isoliert und zur Unterscheidung verschiedenen physiologischen Testverfahren unterzogen. Zur Unterscheidung dienten neben morphologischen Kriterien das Gram-Verhalten, der Katalase- und Oxidasetest, selektive Nährmedien und Flüssigkulturen sowie die standardisierten Testsysteme BD BBL Oxi / Ferm Tube II oder BD BBL Enterotube II. Es konnten aus den beiden Umlaufwässern jeweils 4 nach den Kolonиеigenschaften unterschiedliche Mikroorganismenspezies isoliert werden. Bei jeweils 3 der 4 aus beiden Umlaufwässern isolierten Mikroben konnte die Fähigkeit zur Cyanidverwertung nachgewiesen werden. Mit Hilfe der durchgeführten Testverfahren, konnten alle Mikroorganismenspezies voneinander differenziert werden. Da jeweils 4 differenzierbare Mikroorganismenstämme aus den Umlaufwässern kultiviert werden konnten, wurde auf das Vorhandensein von mindestens zwei weiteren cyanidtoleranten bzw. cyanidabbauenden Mikroorganismen, außer den zwei Spezies der angeimpften Kultur, in den Anlagen geschlossen. Die Spezies der angeimpften Mischkultur KS-7D konnten anhand der durchgeführten Versuche in keiner der beiden Umlaufwasserproben nachgewiesen werden.

Die bisher gewonnen Erkenntnisse und Erfahrungen zur Behandlung cyanidbelasteter Abluftströme zeigen, dass eine Übertragung vom Labormaßstab auf größere Maßstäbe unter „Realbedingungen“ mit Schwierigkeiten verbunden sein kann. Daher ist eine detaillierte Kenntnis von standortspezifischen Einflussfaktoren und dem Betriebsverhalten unter den herrschenden Bedingungen notwendig. Störende Einflussfaktoren müssen daher für den Einzelfall ermittelt werden.

Perspektivisch könnte das entwickelte Verfahren auf Bereiche der biologischen Abwasserbehandlung, beispielsweise für die Behandlung cyanidhaltiger Abwässer der Galvanikindustrie oder der Farben- und Lackindustrie, erweitert werden.

7 Literaturverzeichnis

Bank, 2000

Bank M.: Basiswissen Umwelttechnik: Wasser, Luft, Abfall, Lärm, Umweltrecht. - 4. Aufl.- Würzburg: Vogel Buchverlag, 2000

Bartholmes et al., 1996

Bartholmes, P.; Kaufmann, M.; Schwarz, T.: Schadstoffabbau durch optimierte Mikroorganismen: Gerichtete Evolution – eine Strategie im Umweltschutz. - Berlin: Springer Verlag, 1996

BLU, 2004

Emissionsminderung bei Textilveredlungsanlagen – Teil I Bayrisches Landesamt für Umweltschutz, Augsburg, Landesanstalt für Umweltschutz Baden- Württemberg,- Karlsruhe: Stand: 2004

Bock et al., 1995

Bock, W.; Hahn J. U.; Stamm R.; Stückrath R.: BIA- Report Isocyanate 5/94: Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVBG). - Sankt Augustin: 1995

Bryniok, 2004

Bryniok, D. <dieter.bryniok@igb.fraunhofer.de>: Biologischer Abbau von Cyanid und komplexen Cyanidverbindungen, Internetveröffentlichung, URL: <www.igb.fraunhofer.de/www/gf/umwelt/abwasserreinigung/dt/Cyanid.dt.html>, Stand: 10.09.2006

Chapatwala et al., 1998

Chapatwala, K. D.; Babu, G. R. V.; Vijaya, O. K., ..: Biodegradation of cyanides, cyanates and thiocyanates to ammonia and carbon dioxide by immobilized cells of *Pseudomonas putida*. In: Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. - Ebesco: (1998) Nr. 20, S. 28 – 33

DE000002353559A, 1974

Verfahren zur Entfernung toxischer Cyanidionen aus mit Cyanid verunreinigten alkalischen wässrigen Lösungen. Offenlegungsschrift Bundesrepublik Deutschland, 1974

DEV, 1981

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser -, Abwasser - Schlammuntersuchung, Anionen (Gruppe D). Bestimmung von Cyaniden DIN 38405 Teil 13, 1981

Dubey und Holmes, 1995

Dubey, S. K.; Holmes, D. S.: Biological cyanide destruction mediated by microorganisms. In: World Journal of Microbiology and Biotechnology. - Oxford: (1995), Nr. 11, S. 257 – 265

Ebbs et al., 2006

Ebbs, S. D.; Wong – Chong, G. M.; Bond, B. S., ...: Biological transformation of cyanide in water and soil. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in water and soil. - 1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

European Commission, 2005

European Commission (EC) (2005). Reference document on best available techniques for the surface treatment of metals and plastics. Oberflächenbehandlung von Metallen und Kunststoffen (Umweltbundesamt. Entwurf des deutschen Beitrags zu den besten verfügbaren Techniken bei der „ Behandlung metallischer und nichtmetallischer Oberflächen mit chemischen und elektrochemischen Verfahren“, Berlin)

Ezzi und Lynch, 2004

Ezzi, M. I. and Lynch J. M.: Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. In: Enzyme and Microbial Technology. - Surrey, Guildford: (2005), Nr. 36, S. 849 – 854

Fallon, 1992

Fallon R.D.: Evidence of a hydrolytic route for anaerobic cyanide degradation. In: Applied and Environmental Microbiology-Newark. - Delaware: (1992), Nr. 58/9 S. 3163-3164

Fent, 1998

Fent, K.: Ökotoxikologie. - 1. Aufl. - New York: Thieme Verlag, 1998

Förstner et al., 1997

Förstner, U.; Raudschuss, M.; Reichert, K. J.-Fachgruppe Wasserchemie (1997). Chemie und Biologie der Altlasten. - 1. Aufl. - Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1997

Fritsche, 1998

Fritsche, W.: Umweltmikrobiologie-Grundlagen und Anwendungen.- 1. Aufl.- Jena: Gustav Fischer Verlag, 1998

Ghosh et al., 2006 A

Ghosh, R. S.; Dzombak, D. A.; Wong – Chong, G. M.: Physical and chemical forms of cyanide. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in water and soil. - 1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

Ghosh et al., 2006 B

Ghosh, R. S.;Theis, T. H., Smith, J. R., ...: Ambient temperature oxidation technologies for treatment of cyanide. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in water and soil. -1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

Ghosh et al., 2006 C

Ghosh, R. S.;Theis, T. H., Smith, J. R., ...:Thermal and high temperature oxidation technologies for treatment of cyanide. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in water and soil. - 1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

Harris und Knowles, 1983

Harris, R. and Knowles, C.J.: The conversion of cyanide to ammonia by extracts of a strain of *Pseudomonas fluorescens* that utilizes cyanide as a source of nitrogen for growth. In: FEMS Microbiology Letters.-Canterbury. - Kent: (1983), Nr.20, S. 337-341

Hartinger, 2001

Hartinger, K.: Handbuch der Abwasser- und Recyclingtechnik. -2. Aufl.- München: Carl Hanser Verlag, 2001

Helmert, 2008

Helmert, V.: Erprobung eines textilen Aufwuchsträgers zur biologischen Reinigung cyanwasserstoffhaltiger Abluft. – 2008. - S. 91; Mittweida, Hochschule Mittweida (FH) –

University of Applied Sciences, Fachbereich Mathematik/ Physik/ Informatik, Diplomarbeit, 2008

Holt et al., 2000

Holt, J.G.;Krieg, N.R.; Sneath, H.A.; Staley, J.T., ...: Bergey's manual of determinative bacteriology. - 9.Aufl. - Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000

Horstkotte, 2006

Horstkotte, D.: Entwicklung und Erprobung eines Verfahrens zur oxidativen Entgiftung von freiem und komplex gebundenem Cyanid., Internetveröffentlichung URL:< <http://www.lrz-muenchen.de/~aae/cyanid.html>>, Stand 05.06.2009

Kang und Kim, 1993

Kang, S. M. and Kim D.J. Park, J. M.: Degradation of cyanide by a bacterial mixture composed of new types of cyanide-degrading In: Biotechnology Letters. - Sung Nam City: (1993) Nr.15/ 2 S. 2001-206

Knowles, 1976

Knowles, C. J.: Microorganism and cyanide. In: Bacteriological Reviews. – Canterbury, Kent: (1976) Nr. 40/ 3, S.652 – 680

Knowles, 1988

Knowles, C. J.: Cyanide utilization and degradation by microorganisms In: Evered, D. and Harnet, ...: 1988 Cyanide compounds in biology.- Chichester: John Wiley and Sons, (1988), S.3-15

Kunz et al., 1992

Kunz, D. A.; Nagappan, O.;Silva-Avalos, J., Delong, G.T.: Utilization of cyanide as a nitrogenous substrate by *Pseudomonas fluoreszens* NCIB 11764: evidence for multiple pathways of metabolic conversion. In: Applied and Environmental Microbiology. - Denton: (1992), Nr. 58, S.2022-2029

Kwon et al., 2002

Kwon, H. K.; Woo, S. H.; Park, J.M.: Thiocyanide degradation by *Acremonium strictum* and inhibition by secondary toxicants In: Biotechnology Letters. - Pohang Kyungbuk: (2002) Nr. 24, S. 1347 – 1351

Luque-Almagro et al., 2005

Luque-Almagro V.M.; Huertas M.J.; Martinez-Luque M., ...: Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions In: Applied and Environmental Microbiology. - Caceres: (2005) Nr. 71/ 2, S. 940 - 947

Mansfeld, 2003

Mansfeldt, T.: Mobilität und Mobilisierbarkeit von eisenkomplexierten Cyaniden, Untersuchungen in Kokereiböden und Gichtgasschlämmen, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen: Essen, 2003

Mählmann und Sallat, 2008

Mählmann, J.; Sallat, M.: Minderung von Cyanidemissionen bei der Flammkaschierung – Biologischer Abluftfilter zur Cyanidelimination in der Textilveredlungsindustrie. BMWi – Forschungsprojekt, Abschlussbericht IW061144– Chemnitz, 2008

Martienssen, 2001

Martienssen, M.: Leistungen immobilisierter Mikroorganismen bei der Eliminierung von Umweltschadstoffen. –2001.-200 S. Halle, Martin-Luther-Universität Halle – Wittenberg, Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät, Habilitationsschrift, 2001

Morper, 2000

Morper, M.: Ungewöhnliche Lösungskonzepte bei der biologischen Reinigung von Industrieabwässern, Internetveröffentlichung, URL:<http://www.linde.de/de/p0002/p0008a/download/nr_76e.pdf>, Stand 10.4.2008

Nawaz et al., 1991

Nawaz, M. S.; Davis, J. W.; Wolfram, J. H, ...: Degradation of organic cyanides by *Pseudomonas aeruginosa* In: Applied Biochemistry and Biotechnology. - Idaho: (1991) Nr.28/29, S. 865-875

Neumüller, 1981

Neumüller, O. A.: Römpps Chemie Lexikon. - 8. Aufl.- Stuttgart: Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, 1981

Oelsner et al., 2001

Oelsner, K.; Dornig, D.; Uhlemann, R.: Abbauverhalten von komplexen Cyanidverbindungen. Abschlussbericht, Sächsisches Landesamt für Umwelt und Geologie. – Oelsnitz/ E., 2001

Ottow und Bidlingmaier, 1997

Ottow, J. C. G. und Bidlingmaier, W.: Umweltbiotechnologie. - Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1997

Pfeifer, 1995

Pfeifer W.: BIA-Report 5/94: Bedeutung und Auswirkungen thermischer Zersetzungsreaktionen für die Beurteilung und Ausgestaltung von Arbeitsplätzen, Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften. - Sankt Augustin: 1995

Raphael, 1996

Raphael, T.: Umweltbiotechnologie-Grundlagen, Anwendungen und Perspektiven. - Berlin: Springer Verlag, 1996

Raybuck, 1992

Raybuck, S. A.: Microbes and microbial enzymes for cyanide degradation In: Biodegradation.- Austin: (1992) Nr. 3, S. 3 – 18

Sander, 1999

Sander, R.: sander@mpch-mainz.mpg.de>, Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry, Internetveröffentlichung, URL:< <http://www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html>> Stand: 27.06.2009

Schlegel, 1985

Schlegel, H. G.: Allgemeine Mikrobiologie. - 6. überarb. Aufl. - Stuttgart: Thieme Verlag:,1985

Skowronski und Strobel, 1969

Skowronski, B. and Strobel, G.A.: Cyanide resistance and cyanide utilization by a strain of *Bacillus pumilus*. In: Canadian Journal of Microbiology. - Montana (1969) Nr.15 S.93-98

Steinbüchel und Oppermann-Sanio, 2003

Steinbüchel, A. und Oppermann-Sanio, F. : Mikrobiologisches Praktikum. -1. Aufl. - Berlin: Heidelberg: Springer Verlag, 2000

Stephan, 2005

Stephan M. A. : Abbauraten und Populationsdynamiken in einem Biofilm-Rieselbettreaktor zur Abluftreinigung.-2005 -176 S. München, Universität München, Lehrstuhl für chemische Verfahrenstechnik, Dissertation, 2005

Suh et al., 1994

Suh, Y.-J.; Park, J. M.; Yang, J.-W.: Biodegradation of cyanide compounds by *Pseudomonas fluorescens* immobilized on zeolite. In: Enzyme and Microbial Technology. - Pohang, Taejon: 1994 Nr. 16, S. 529 – 533

Süßmuth et al., 1999

Süßmuth, R.; Eberspächer, J.; Haag, ..: Mikrobiologisch – Biochemisches Praktikum. -2. völlig überarb. Aufl. - Stuttgart: Thieme Verlag, 1999

TA Luft, 2002

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft – TA Luft: 24. Juli 2002

Umweltbundesamt, 2003

Umweltbundesamt: Integrierte Vermeidung und Verminderung der Umweltverschmutzung (IVU), BVT- Merkblatt zu Abwasser- und Abgasbehandlung/ -management in der chemischen Industrie, 2003

VDI 3478, 2008

VDI 3478 :Biologische Abgasreinigung – Biorieselbettreaktoren. VDI – Richtlinie 3478. Berlin: Beuth – Verlag, Stand 04.2008

Wong - Shong et al., 2006 A

Wong – Chong, G. M.; Nakles, D. V.; Luthy, R. G.: Manufacture and the use of cyanide. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in Water and Soil. - 1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

Wong - Shong et al., 2006 B

Wong – Chong, G. M.; Ghosh, R. S J.; Bushey J.T., ...: Natural Sources of Cyanide. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in Water and Soil.- 1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

Wong - Shong und VanBriesen, 2006

Wong – Chong, G. M. and J. M. VanBriesen.: Microbiological technologies for treatment of cyanide. In: Dzombak, D. A.; Ghosh, R. S.; Wong – Chong, G. M., ...: 2006; Cyanide in Water and Soil. - 1. Aufl. - Boca Raton: Taylor & Francis, 2006

Wurster, 1999

Wurster, B. (1999). Entgiftung trüber Prozesswässer in der Fertigungstechnik. Steinbeis: Transferzentrum Umwelttechnik, 1999

Anhang

Anhang A1: Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Produkt / Chemikalie (Reinheit)	Hersteller (Ort)
alpha-D-Glucose	Serva, Heidelberg
Dinatriumhydrogenphosphat-dihydrat ($\geq 99,5\%$)	Sigma-Aldrich; Seelze
D-Mannose (k.A.)	Serva, Heidelberg
Eisen (III)-Chlorid-Hexahydrat ($\geq 99\%$)	Sigma-Aldrich; Seelze
Eisen(III)-citrat Monohydrat (18-20 % Fe)	Sigma-Aldrich; Steinheim
Ethanol ($\geq 99\%$)	Merck; Darmstadt
Fructose (k. A.)	Müller's Mühle; Gelsenkirchen
Glutaraldehyd-Lösung (50%)	Sigma-Aldrich; Steinheim
Glycerin (k. A.)	(k. A.)
Immersionsöl TM 518 F	Carl Zeiss, Jena
Kaliumcyanid ($\geq 97\%$)	Merck; Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat ($\geq 99,5\%$)	Merck; Darmstadt
Kaliumhydroxid ($\geq 85\%$)	Fisher Scientific; Schwerte
Kováč-Reagenz	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid ($\geq 99,5\%$)	Sigma-Aldrich; Seelze
Natriumhydroxid ($\geq 97\%$)	Baker; Deventer (NL)
Silbernitrat (k.A.)	Feinchemie Sebnitz
Schwefelsäure ($\geq 95 - 97\%$)	Malinckrodt; Deventer (NL)
5- (4-Dimethylaminobenzyliden)-rhodanin ($\geq 98\%$)	Merck; Darmstadt
Wasserstoffperoxid-Lösung (30%)	Th. Geier; Hamburg
Agar (Fluka)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Bactident®-Aminopeptidase-Teststäbchen	Merck, Darmstadt
Bactident®-Oxidase-Teststäbchen	Merck, Darmstadt
BD Enterotube II	BD Diagnostic Sytems, Heidelberg
BD Oxi/Ferm Tube II	BD Diagnostic Sytems, Heidelberg
Drigalski - Spatel	Th. Geier; Hamburg
Einmalküvetten 2,5 mL	Carl Roth, Karlsruhe
Küvettentests LCK 014, LCK 238, LCK 303, LCK 339, LCK 348	Dr.Lange, Berlin
Laborflaschen (250 mL, 500 mL)	Th. Geier; Hamburg

Membranfilter (0,45 µm)
 Membranfilter (0,22 µm)
 pH-Indikatorstäbchen (7,5-9,5)
 Pipettenspitzen
 Petrischalen
 Reagenzgläser
 Trypton-Soya-Agar (TSA)

Amchro GmbH, Hattersheim
 Roth GmbH, Hamburg
 Machery-Nagel, Düren
 Th. Geier; Hamburg
 Th. Geier; Hamburg
 Fisher Scientific; Schwerte
 Carl Roth, Karlsruhe

Gerät

Autoklav LTA 300
 Feinwaage CP 224 S
 Fluoreszenzmikroskop Axiovert 200 M
 Gasprobennehmer GS 312, 230 V
 Gasprobennehmer GS 450 230 V
 Gel-Dokumentationssystem Gerix 1045
 Kamera DS-Fi 1
 Kleinbrutschrank B 15
 Magnetrührer mit Heizplatte MR 3001 K
 Magnetrührer MONO
 Mini-Schüttler MS 1
 pH-Einstabmesskette Multilab p4
 Pipette (2 – 10 mL, 1 – 5 mL, 100 – 1000 µL)
 Pumpe MP 500
 Rasterelektronenmikroskop XL 20
 Rührsystem AL 322
 Stereomikroskop Amplival
 Spektralphotometer CADAS 100
 Stereomikroskop MTC 1630
 Thoma-Zählkammer (Tiefe:0,02 mm)
 UV-Lampe SN 460304
 UV-Transilluminator UST-20M-8E

Hersteller (Ort)

Zirbus; Bad Grund
 Sartorius; Göttingen
 Carl Zeiss, Jena
 DESAGA; Sarstedt
 DESAGA; Sarstedt
 Biostep, Jahnsdorf
 Nikon, Japan
 Heraeus; Hanau
 Heidolph; Schwabach
 Variomag; Oberschleißheim
 IKA – Works; Wilmington
 WTW; Langen
 Thermo Labsystems; Vantaa (FI)
 Behr Labortechnik; Düsseldorf
 Philips; Eindhoven (NL)
 Aqualytik; Langen
 Carl Zeiss; Jena
 Dr. Lange; Berlin
 Euromex; Arnhem (NL)
 Karl Hecht, Sondheim
 Karl-Bresemann, Heidelberg
 Biostep, Jahnsdorf

Anhang A 2: Zusammensetzung und Herstellung der Bestandteile für die Fest- und Flüssigmedien

- Phosphat-Puffer (500 mM), pH 7,5 - PP

- 78 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$

- 18 g KH_2PO_4 auf 100 mit bidestilliertem Wasser mL auffüllen, mit NaOH auf pH 7,5 einstellen, autoklavieren (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)

- Mineralsalzlösung 1 (100fach) – MSL 1

- 0,59 g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ auf 100 mL mit bidestilliertem Wasser auffüllen, autoklavieren (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)

- Mineralsalzlösung 2 (100fach) – MSL 2

- 10 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$

- 0,2 g Fe(III)-Citrat

- 10 ml Spurenelementlösung SL 6 auf 100 mL mit bidestilliertem Wasser auffüllen, autoklavieren (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)

- Mineralsalzlösung 2 (100fach) – MSL 2 (ohne Eisen(III)-Citrat)

- 10 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$

- 10 ml Spurenelementlösung SL 6 auf 100 mL mit bidestilliertem Wasser auffüllen, autoklavieren (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)

- gepufferte Eisen(III)-Cloridlösung (1,23mM) (Konzentration nach Süßmuth et al., 1999)

- 0,2 g $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ auf 100 mL mit bidestilliertem Wasser auffüllen, autoklavieren (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)

- anschließend 10 ml der Eisenchloridlösung mit Phosphat-Puffer (500 mM, pH 7,5, steril) auf 100 mL auffüllen (steril)

- Spurenelementlösung SL 6

- 100 mg $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$

- 30 mg $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$

- 300 mg H_3BO_3

- 200 mg $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$

- 10 mg $\text{CuCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$

- 20 mg $\text{NiCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$

- 30 mg $\text{NaMoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ auf 1000 mL mit bidestilliertem Wasser auffüllen

- KCN - Lösung (100 mM) steril filtriert (Porenweite 0,2 μm)
- alpha-D-Glucose-Lösung (200 mM) autoklaviert (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)
- D- Mannose- Lösung (200 mM) autoklaviert (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)
- Fructose-Lösung (200 mM) autoklaviert (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)
- Glycerin –Lösung (400 mM) autoklaviert (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)
- bidestilliertes Wasser (20 Min bei 121 °C und 0,2 bar)

Anhang A- 3: Selektives cyanid- und fructosehaltiges Flüssig-Mineralsalzmedium für Laborrieselreaktor, Anreicherungskulturen, KBE - Bestimmungen und Flüssigmedien mit verschiedenen C-Quellen

Herstellung eines Ansatzes von 100 ml (nach Bryniok, modifiziert nach Sallat)

Die Lösungen wurden in folgender Reihenfolge in das Becherglas, welches auf dem Magnetrührer stand, gegeben (Reihenfolge ist einzuhalten, da es sonst zu Ausfällungen kommen kann):

- 50 mL bidestilliertes Wasser
- 0,5 mL MSL 1
- 0,5 mL MSL 2 (für Lösungen Kapitel 2.1.3, 2.1.3.4, und 3.2.3)

Für selektive Flüssigmedien mit verschiedenen C-Quellen (Kapitel 4.1.4):

- anstatt MSL 2: erfolgt Zugabe von 0,5 mL MSL 2 (ohne Eisen(III)-Citrat) und
- 1 mL gepufferte Eisen (III)-Cloridlösung
- 10 mL Phosphatpuffer
- 1 mL Fructoselösung für (1 mM Cyanid) oder 0,5 mL für (0,5 mM Cyanid)

Für selektive Flüssigmedien mit verschiedenen C-Quellen (Kapitel 4.1.4):

- 0,5 mL Fructoselösung oder,
- 0,5 mL alpha-D-Glucose-Lösung oder
- 0,5 mL D-Mannose-Lösung oder
- 0,5 mL Glycerin-Lösung
- 1 mL KCN-Lösung (1 mM) oder 0,5 mL KCN-Lösung (0,5 mM)

Anschließend wurde mit bidestilliertem Wasser auf 100 mL aufgefüllt.

Anhang A- 4: Selektives cyanidhaltiges (0,5 mM) Festmedium mit
verschiedenen C-Quellen (nach Bryniok, modifiziert nach Sallat
und van Lackum)

Herstellung von 500 mL Medium:

- 7,5 g Agar (Fluka Chemie AG) in 440 mL in bidestilliertes Wasser lösen und autoklavieren (15 Minuten bei 121 °C und 0,2 bar)
- nach dem Abkühlen auf 60 °C steril hinzugeben:
 - 50 mL Phosphatpuffer
 - 2,5 mL MSL 1
 - 2,5 mL MSL 2 (ohne Eisen (III)-Citrat)
 - 5 mL gepufferte Eisen(III)-Cloridlösung
 - 2,5 mL Fructose-Lösung oder
 - α- D-Glucose -Lösung oder
 - D-Mannose-Lösung oder
 - Glycerin-Lösung
 - 2,5 mL KCN-Lösung

Anhang A- 5: Anleitungen

Gram-Typ-Bestimmung mittels KOH-Schnelltest

Zur Durchführung des Tests wurde ein Tropfen KOH-Lösung (3 %) auf einen Objektträger gegeben und darin mittels Impföse etwas Koloniematerial suspendiert. Nach ca. 2 Minuten wurde die Impföse flach in die Suspension gelegt und langsam angehoben. Handelt es sich um Gram-negative Bakterien zieht die viskose Lösung einen zähen Faden, während bei Gram-positiven Bakterien keine Viskosezunahme eintritt und somit kein Faden sichtbar wird.

L-Alanyl-Aminopeptidase-Test (LAAP-Test)

Zur Durchführung wurde etwas Koloniematerial mit der Impföse in 500 µL bidestilliertem Wasser suspendiert. Anschließend wurde das Teststäbchen so in das Reagenzglas eingebracht, dass die Reaktionszone vollständig mit Zellsuspension bedeckt war. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei 30 °C wurde die Färbung des Teststreifens bewertet.

Katalase-Nachweis

Zum Katalase-Nachweis wurde ein Tropfen H₂O₂-Lösung (3 %) auf eine Kolonie aufgetropft. Zum Nachweis der Katalase wurden Bakterienkolonien mit einem Tropfen 3%-iger Wasserstoffperoxidlösung verrieben. Auf die Anwesenheit von Katalase kann geschlossen werden, wenn nach wenigen Sekunden ein Aufschäumen beobachtet werden kann.

Oxidasetest

Zur Durchführung wurde etwas Koloniematerial in 500 µL bidestilliertem Wasser suspendiert und der Teststreifen so in die Suspension eingebracht, dass die Reaktionszone vollständig mit Suspension bedeckt war. Nach 60 Sekunden wurde die Bakteriensuspension hinsichtlich ihrer Färbung beurteilt. Aufgrund der von der Anleitung abweichenden Durchführung wurde der Test in drei Ansätzen gleichzeitig durchgeführt.

Anhang A- 6: Eigenschaften der Bakterienstämme *Cupriavidus eutrophus* und *Cupriavidus basilensis* (nach Bryniok, 2004)

Eigenschaften	<i>Cupriavidus eutrophus</i>	<i>Cupriavidus basilensis</i>
Zellform	Stäbchen	Stäbchen
Breite / Breite (µm)	0,6-0,7 / 1,5-2,5	0,6-0,7 / 1,5-3
Gram-Reaktion	-	-
Lysis durch 3% KoH	+	+
Aminopeptidase (Cerny)	+	+
Oxidase	+	+
Catalase	+	+
Beweglichkeit	+	+
Geißeln	peritrich	peritrich
Wachstum bei 42 °C	-	-
ADH	-	-
Urease (48 h)	+	+
Nitratreduktion	+	-
Substratverwertung		
Citrat	-	+
Malat	+	+
Adipat	+	+
Glucose	-	-
Mannit	-	-
Mannose	-	-
Phenylacetat	+	+
Caprat	+	+
Maltose	-	-
Arabinose	-	-
D-Galactose	-	-
trans-Aconitat	+	+
L-Tartrat	+	+
D-Xylose	-	-
D-Fucose	-	-
Mesaconat	+	+
Hydrolyse von:		
Gelatine	-	-
Esculin	-	-

Eigenständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Chemnitz, 23.09. 2009

Andre´ van Lackum